

Aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. Lars French

**Messung der Zytokinkonzentration in der Sulkusflüssigkeit an Zähnen und
Titan-Zahnimplantaten: Korrelation mit periimplantärem Knochenrückgang**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Janina Endres
aus München
2020

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Peter Thomas
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. M. Stimmelmayer PD Dr. P. Scheiermann
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. rer. hum. biol. Burkhard Summer
Dekan:	Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel
Tag der mündlichen Prüfung:	21.09.2020

Meiner Familie

Abkürzungsverzeichnis

ASA	<i>American Society of Anaesthesia</i>
BOP	<i>Bleeding on probing</i>
CAL	<i>Clinical attachment level</i>
CBA	<i>Cytometric bead assay</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
Fa.	Firma
FACS	<i>Fluorescence-activated cell sorting</i>
FMBS	<i>Full mouth bleeding score</i>
FMPS	<i>Full mouth plaque score</i>
IL-1 α	Interleukin-1 α
IL-1 β	Interleukin-1 β
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
IL-10	Interleukin-10
KM	<i>Width of keratinized mucosa</i>
MR	<i>Mucosal recession</i>
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung (<i>phosphate-buffered saline</i>)
PI	Plaque-Index
PPD	<i>Probing pocket depth</i>
SD	<i>Standard deviation</i>
SEM	<i>Standard error of the mean</i>
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Zahnimplantate	7
1.1.1	Aufbau eines Zahnimplantats	7
1.1.2	Oberflächenbearbeitung von Zahnimplantaten	8
1.1.3	Periimplantäres Gewebe	9
1.2	Periimplantitis	11
1.3	Die Sulkusflüssigkeit	13
1.3.1	Inflammatorische Zytokine	14
1.3.2	Zytokine in der Sulkusflüssigkeit als mögliche Biomarker bei der Diagnostik periimplantärer Erkrankungen	14
2	Ziele der Arbeit	16
3	Material und Methoden	17
3.1	Studiendesign	17
3.2	Patientenkollektiv	18
3.3	Klinische Parameter	19
3.4	Entnahme von Sulkusflüssigkeit	21
3.5	Voruntersuchung Kinetik	21
3.6	Cytometric bead assay (CBA)	21
3.6.1	Elution aus den Teststreifen	22
3.6.2	Erstellung der Standardreihe	22
3.6.3	Vorbereitung der Proben für die Durchflusszytometrie	23
3.6.4	Durchflusszytometrie	24
3.7	Laborgeräte und Verbrauchsmaterialien	24
3.7.1	Geräte	24
3.7.2	Verbrauchsmaterialien	25
3.7.3	Human Soluble Protein Master Buffer Kit (BD Biosciences, Franklin Lakes, USA)	25
3.7.4	Human Flex Set (für IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α)	25
3.7.5	Lösungen für die FACS-Analyse	25
3.7.6	Software	26
3.8	Datenanalyse und Statistik	26
4	Ergebnisse	27

4.1	Allgemeine Patientencharakteristika	27
4.2	Voruntersuchung Kinetik: Optimale Elutionsdauer von Zytokinen aus Teststreifen	28
4.3	Vergleich der Zytokinkonzentration in Sulkusflüssigkeit an Implantaten mit der an Zähnen desselben Patienten	29
4.4	Vergleich der Zytokinkonzentration in Sulkusflüssigkeit an Implantaten mit maschinierter Abutmentoberfläche mit der an Implantaten mit mikrostrukturierter (<i>microgrooved</i>) Abutmentoberfläche	30
4.5	Vergleich des radiologisch gemessenen Knochenrückgangs mit der Zytokinkonzentration in der Sulkusflüssigkeit	33
5	Diskussion	36
5.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	36
5.2	Diskussion der Methodik.....	36
	5.2.1 Entnahme der Sulkusflüssigkeit	36
	5.2.2 Messung der Zytokine	39
5.3	Vergleich mit der Literatur.....	40
5.4	Diskussion der Ergebnisse	42
5.5	Bedeutung für die Klinik und Ausblick.....	44
6	Zusammenfassung	48
7	Literaturverzeichnis.....	50
8	Abbildungsverzeichnis	57
9	Tabellenverzeichnis	58
11	Danksagung.....	59
12	Eidesstattliche Erklärung	60

1 Einleitung

1.1 Zahnimplantate

1.1.1 Aufbau eines Zahnimplantats

Ein Zahnimplantat ist ein Objekt aus künstlichem (alloplastischem) Material, das operativ in den Kieferknochen eingesetzt wird (Insertion), um als Verankerung für festsitzenden oder herausnehmbaren Zahnersatz (Suprakonstruktion) zu dienen (Weber, 2010). Es wird auch als „künstliche Zahnwurzel“ bezeichnet (Lehmann et al., 2009).

Mit Hilfe von Implantaten können einzelne Zähne ersetzt werden oder zwei Implantate können als Brückenanker für den Ersatz mehrerer Zähne fungieren (Babbush et al., 2011). Implantate unterscheiden sich in Form, Größe, Oberflächenbearbeitung und Material (Guillaume, 2016).

Zahnimplantate sind meist Titan-basiert. Dabei wird zwischen Reintitan (99 % Titan und geringe Mengen an Begleitelementen) und Titan-Legierungen (z. B. Ti-6Al-4V) unterschieden. Zunehmend werden auch Keramikimplantate eingesetzt: zu Beginn wurde Aluminiumoxid-Keramik verwendet, heute sind die meisten Keramikimplantate aus Zirkoniumdioxid (Rosentritt et al., 2018).

Die heute am häufigsten verwendete Form sind Schraubenimplantate (*screw-in implants*). Sie bestehen aus folgenden Abschnitten: a) ein Implantatkörper mit Außengewinde, der in den Kieferknochen eingeschraubt wird; b) das *Abutment*, definiert als das aus dem Kieferknochen herausragende Verbindungsteil zwischen Implantatkörper und Suprakonstruktion; c) die Suprakonstruktion, z. B. eine Implantatkrone (Rosentritt et al., 2018).

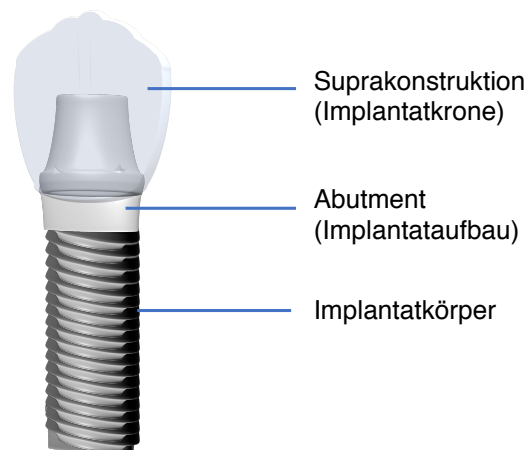


Abbildung 1: Aufbau eines Zahnimplantats (eigene Darstellung)

1.1.2 Oberflächenbearbeitung von Zahnimplantaten

Als Osseointegration wird eine direkte funktionelle und strukturelle Verbindung zwischen Knochen und der Oberfläche eines Implantats bezeichnet. Dieser Verbund ist lichtmikroskopisch sichtbar. Dabei steht das Implantat in funktioneller Belastung, ist klinisch asymptomatisch und zeigt keine Lockerung (Albrektsson et al., 2005; Guillaume, 2016; Weber, 2010). Die Osseointegration entsteht durch das Anwachsen von Osteoblasten an die Implantatoberfläche (Rosentritt et al., 2018).

Für die Osseointegration spielt neben einer schonenden Operationstechnik und einer ausreichend langen Einheilphase die Implantatoberfläche eine wichtige Rolle (Guillaume, 2016).

Die Hersteller von Implantaten haben eine Reihe spezifischer Verfahren entwickelt, um die Osseointegration und damit die langfristige biomechanische Verankerung des Implantats in der Knochenmatrix zu verbessern. Implantate mit rauer Oberfläche weisen eine bessere Osseointegration auf als Implantate mit glatter, sogenannter maschinierter (*machined*) Oberfläche (Guillaume, 2016; Wennerberg et al., 2009). Die am häufigsten verwendeten Implantate haben eine moderat raue Oberfläche mit einer Profiltiefe von 1 bis 2 μm (Albrektsson et al., 2005; Guillaume, 2016).

Es werden verschiedene Methoden eingesetzt, um eine raue Oberfläche zu erzeugen. Dabei wird zwischen subtraktiven Prozessen (z. B. Sandstrahlen oder Säureätzen) und additiven Prozessen (z. B. Titan-Plasma- oder Kalziumphosphat-Beschichtungen) unterschieden (Wennerberg et al., 2009).

Die periimplantäre Mukosa soll – wie auch die Gingiva bei natürlichen Zähnen – eine Schutzbarriere gegen mikrobielle Plaque bilden (Ketabi et al., 2013). Daher hat neben der Oberflächenstruktur des Implantatkörpers selbst auch die Oberflächenstruktur der transmukosalen Anteile (Abutment) eines Implantats eine große Bedeutung. Man geht davon aus, dass durch eine erhöhte Rauigkeit der Abutmentoberfläche die unerwünschte Biofilm-Adhäsion gefördert wird. Daher verwenden die meisten Hersteller glatte Abutmentoberflächen (Rosentritt et al., 2018).

Ein neuer Ansatz sind mikrostrukturierte Oberflächen. Hierbei werden durch Laserablation Mikrorillen erzeugt. Es gibt Hinweise, dass dieses Konstruktionsmerkmal eine Anhaftung von Zahnfleischkollagen – ähnlich wie bei natürlichen Zähnen – an der Abutmentoberfläche begünstigt (Ketabi et al., 2013).

Gleichzeitig gibt es Studien, die zeigen, dass die Art der Oberfläche eines Abutments keinen signifikanten Einfluss auf den klinischen Parameter „Blutungsneigung auf Sondieren“ als Ausdruck einer Entzündung im periimplantären Weichgewebe hat (Sanz-Martin et al., 2018). Laut einer Konsenserklärung der European Association for Osseointegration (Schwarz et al., 2019) gibt es nur geringe Evidenz für die Auswirkung von Abutmenteigenschaften (Oberfläche und Material) auf das periimplantäre Gewebe.

1.1.3 Periimplantäres Gewebe

Das periimplantäre Gewebe ähnelt dem parodontalen Gewebe natürlicher Zähne: die periimplantäre Mukosa haftet im Bereich der Abutmentoberfläche ringförmig am

Implantat. Sie bildet so eine manschettenartige Barriere. Die periimplantäre Mukosa ist bedeckt von keratinisiertem oralen Epithel (Renvert et al., 2012).

Die Kollagenfasern im Bindegewebe der periimplantären Mukosa beginnen auf Höhe des krestalen Knochens und verlaufen parallel zur Implantatoberfläche (Renvert et al., 2012). Sie haben – im Gegensatz zu Kollagenfasern in der Umgebung natürlicher Zähne, die zum Teil in direkter Verbindung zur Oberfläche der Zahnwurzel stehen – keine Anhaftung an die Implantatoberfläche (Weber, 2010).

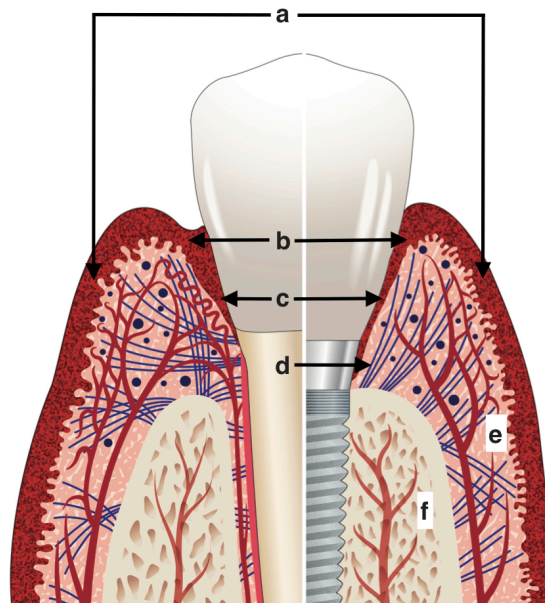


Abbildung 2: Strukturen des periimplantären Gewebes (rechte Bildhälfte) im Vergleich zum parodontalen Gewebe (linke Bildhälfte). a) orales Epithel, b) orales Sulkusepithel, c) Saumepithel, d) Kollagenfasern, e) Bindegewebe mit Kollagenfasern und Gefäßen, f) Alveolarknochen; entnommen aus Renvert et al. (2012), mit Genehmigung des Verlags per E-Mail vom 31. Juli 2019

In einem Hunde (Beagle)-Modell zeigten Ericsson und Lindhe, dass das periimplantäre Attachment schwächer ist als das Attachment der Gingiva am Zahn. Dadurch war bei gleicher Sondierungskraft die Sondierungstiefe bei Implantaten tiefer als bei Zähnen (Ericsson et al., 1993). In einer späteren Studie in einem ähnlichen Modell konnten Abrahamsson und Soldini diesen Unterschied zwischen Zahn und Implantat jedoch nicht bestätigen (Abrahamsson et al., 2006).

1.2 Periimplantitis

Gingivitis (Entzündung der Gingiva) und Parodontitis (Entzündung des Parodonts) sind Erkrankungen des Zahnhalteapparats natürlicher Zähne.

In Analogie hierzu sind periimplantäre Mukositis und Periimplantitis Erkrankungen in an Zahnimplantate angrenzenden Geweben: die periimplantäre Mukositis ist ein bakterieninduzierter, reversibler, entzündlicher Prozess des periimplantären Weichgewebes mit Schwellung, Rötung und Blutung auf Sondieren; die Periimplantitis ist eine fortgeschrittene, irreversible Erkrankung des Weichgewebes und des Knochens um Implantate. Sie ist begleitet von erhöhter Taschentiefe, Pusentwicklung, Knochenresorption und verminderter Osseointegration des Implantats (Duarte et al., 2016; Smeets et al., 2014).

2018 wurde von der *European Federation of Periodontology* eine Übersichtsarbeit zu Periimplantitis mit einer aktuellen Definition veröffentlicht: demnach ist die Periimplantitis ein pathologischer Zustand, der in Geweben um Zahnimplantate auftritt und durch Entzündungen des periimplantären Bindegewebes mit fortschreitendem Knochenverlust und klinisch messbarer erhöhter Taschentiefe gekennzeichnet ist (Schwarz et al., 2018).

Als Risikofaktoren für Periimplantitis gelten die vorbestehende Erkrankung an chronischer Parodontitis, schlechte Plaquekontrolle und fehlende regelmäßige Kontrollen nach Implantattherapie (Schwarz et al., 2018). In Lehrbüchern werden außerdem Tabakabusus und Diabetes mellitus durch die daraus resultierenden Wundheilungsstörungen als Risikofaktoren bei Implantattherapie eingeordnet (Neukam et al., 2007). Allerdings gibt es laut Schwarz et al. (2018) derzeit keine eindeutige Evidenz, dass Tabakabusus und Diabetes mellitus Risikofaktoren für Periimplantitis darstellen.

Fünf bis zehn Jahre nach Implantation tritt etwa an 10 % der Implantate und bei 20 % der Patienten eine Periimplantitis auf (Mombelli et al., 2012). In einer aktuellen

Metaanalyse schwankt bei Patienten die Prävalenz für periimplantäre Mukositis zwischen 19 und 65 % (mittlere Prävalenz: 43 %) und die Prävalenz für Periimplantitis zwischen 1 und 47 % (mittlere Prävalenz: 22 %) (Derks et al., 2015).

Entsprechend der Ätiologie einer Gingivitis bei natürlichen Zähnen entsteht auch die Mukositis bei Implantaten in erster Linie durch die Akkumulation bakterieller Plaque auf der Implantatoberfläche (Hellwig et al., 2018; Pontoriero et al., 1994; Renvert et al., 2012). Dabei folgt die Etablierung der Mikroorganismen auf der Implantatoberfläche dem gleichen Muster wie an natürlichen Zähnen (Leonhardt et al., 1992). Die mikrobielle Flora mit vor allem grampositiven, fakultativ anaeroben Bakterien ähnelt der einer Gingivitis. Die vorhandenen Keime (z. B. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) haben große Ähnlichkeit mit der Keimbesiedelung einer fortgeschrittenen Parodontitis (Hellwig et al., 2018).

Durch die Akkumulation von Plaque entsteht ein lymphohistiozytäres Infiltrat mit Makrophagen, T- und B-Lymphozyten (Renvert et al., 2012; Schwarz et al., 2014). Dabei schreitet die Gewebedestruktion bei Implantaten schneller voran als bei natürlichen Zähnen (Hellwig et al., 2018; Lindhe et al., 1992).

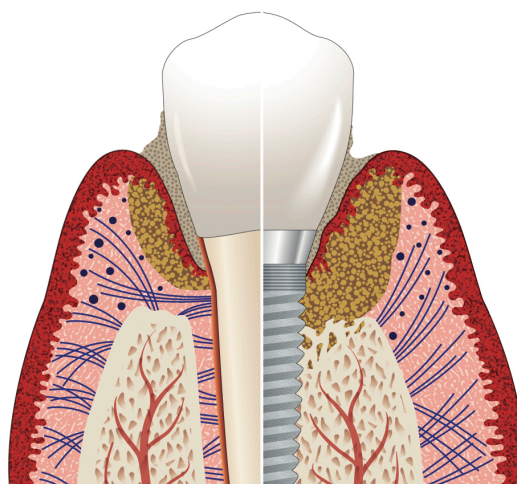


Abbildung 3: Ausbreitung eines entzündlichen Infiltrats im periimplantären Gewebe (rechte Bildhälfte) im Vergleich zur Ausbreitung im parodontalen Gewebe (linke Bildhälfte); entnommen aus Renvert et al. (2012), mit Genehmigung des Verlags per E-Mail vom 31. Juli 2019

Das entzündliche Infiltrat kann sich bei einer Periimplantitis bis zum Alveolarknochen ausbreiten. Im Vergleich dazu bleibt das entzündliche Infiltrat bei einer Parodontitis immer etwa einen Millimeter vom Alveolarknochen entfernt und ist durch einen nicht entzündeten Bindegewebsbereich von Knochen getrennt (Berglundh et al., 2004; Lindhe et al., 1992; Renvert et al., 2012).

1.3 Die Sulkusflüssigkeit

Die Sulkusflüssigkeit entsteht im gingivalen Gefäßplexus und gelangt über die Zellen des Saumepithels in den Sulkus. Auch bei physiologischen parodontalen Verhältnissen ist Sulkusflüssigkeit vorhanden, wenn auch nur in geringen Mengen mit einer Fließrate von etwa 20 µl/h (Barros et al., 2016; Hellwig et al., 2018).

Die Sulkusflüssigkeit enthält zelluläre Bestandteile, z. B. Immunzellen und nicht-zelluläre Bestandteile, z. B. Elektrolyte, Plasmaproteine, Zytokine und Antikörper, die lokal als Reaktion auf orale Mikroorganismen im Biofilm gebildet werden (Barros et al., 2016; Newman et al., 2015).

Sie hat folgende Funktionen: Reinigung des Sulkus durch Spülfunktion, Epithelanhaftung am Zahn durch Plasmaproteine und antimikrobielle Funktion unter anderem durch Antikörper (Hellwig et al., 2018; Newman et al., 2015; Wassall et al., 2016).

Die Sulkusflüssigkeit kann sowohl eine physiologische Flüssigkeit als auch ein entzündliches Exsudat sein. Bei entzündlichen Vorgängen steigt die Fließrate um das bis zu 5-fache an und es kommt zu einem Anstieg der Zellularität. Es werden dabei Entzündungsfaktoren, wie Zytokine, Proteine, Proteinasen, Phosphatasen und lokale Gewebsabbauprodukte in die Sulkusflüssigkeit freigesetzt (Barros et al., 2016; Hellwig et al., 2018; Wassall et al., 2016).

1.3.1 Inflammatorische Zytokine

Die zelluläre Immunantwort umfasst die Bildung von Zytokinen. Zytokine sind Proteine, die von Zellen freigesetzt werden und als Botenstoffe mit Wirkung auf anderen Zellen fungieren. Eine große Gruppe von Zytokinen wirkt proinflammatorisch. Dazu zählen IL-1 α , IL-1 β und weitere Vertreter der Interleukine, wie z. B. IL-18, sowie TNF- α (Mantovani et al., 2019). Zu den proinflammatorischen Wirkmechanismen von IL-1 α und IL-1 β zählen die Bindung von neutrophilen Leukozyten und Monozyten an das Endothel und die Induktion der Bildung von Prostaglandin E₂ und von lysosomalem Enzym (Newman et al., 2015). Mehrere der proinflammatorischen Mechanismen führen zu einer vermehrten Knochenresorption (Bach, 2007; Dinarello, 2018; Faot et al., 2015).

Generell gilt, dass nach Implantatinserion „Trauma-bedingt“ Wundheilung, Remodelling und potentielle Osseointegration mit der Freisetzung interzellulärer Botenstoffen verknüpft sind. Exemplarisch werden diesbezüglich Zytokine, Chemokine und Wachstumsfaktoren in der Veröffentlichung von Gürkan et al. (2019) genannt.

1.3.2 Zytokine in der Sulkusflüssigkeit als mögliche Biomarker bei der Diagnostik periimplantärer Erkrankungen

Für die Diagnose einer Periimplantitis wird eine Kombination klinischer (Taschenmessung, Blutung auf Sondierung, Prüfung auf Implantatlockerung) und radiologischer (Untersuchung auf Knochenrückgang) Parameter verwendet. Diese Methoden sind jedoch limitiert durch individuelle Einflüsse des Untersuchers (z. B. Krafteinwirkung und Richtung bei der Sondierung), sowie durch den Biotyp der Gingiva und die Geometrie der Suprakonstruktion und damit die Zugänglichkeit der Tasche. Daher wird Periimplantitis häufig nicht oder zu spät erkannt (Duarte et al., 2016).

Es wird versucht die klinischen und radiologischen Nachweismethoden mit weiteren, möglichst nicht-invasiven Methoden zu ergänzen (Candel-Martí et al., 2011; Javed et al., 2011; Li et al., 2014).

Bei der Periimplantitis induzieren Bakterien die Bildung von proinflammatorischen Zytokinen und von anderen Entzündungsmediatoren, wie z. B. Matrix-Metallo-Proteinase 8. Daher wurde vorgeschlagen, die Quantifizierung der Zytokine in der Sulkusflüssigkeit als Maß für den Zustand des periimplantären Gewebes heranzuziehen. Der Stellenwert dieser Quantifizierung für die Vorhersage oder Diagnosestellung einer Periimplantitis ist noch nicht geklärt (Duarte et al., 2016).

Auch bei natürlichen Zähnen wird die Zusammensetzung der Sulkusflüssigkeit als Spiegelbild des Entzündungszustands des parodontalen Gewebes angesehen. Sie ist daher von Bedeutung für das Verständnis der parodontalen Pathogenese und um neue diagnostische Strategien für parodontale Erkrankungen zu entwickeln (Wassall et al., 2016).

2 Ziele der Arbeit

Es ist bekannt, dass inflammatorische Zytokine zur Entzündung des periimplantären Gewebes mit Knochenrückgang (Periimplantitis) nach Insertion von Implantaten beitragen (Ata-Ali et al., 2015; Ramseier et al., 2016; Renvert et al., 2017). In der vorliegenden Studie wurden die inflammatorischen Zytokine IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α in der Sulkusflüssigkeit von Zähnen und Implantaten quantifiziert, sowie klinische und radiologische Daten erhoben. Es wurden folgende Fragen untersucht:

1. Was ist die optimale Elutionsdauer, um Zytokine aus dem Teststreifen, mit dem die Sulkusflüssigkeit entnommen worden war, freizusetzen?
(Kinetikuntersuchung)
2. Korreliert die Zytokinkonzentration der Sulkusflüssigkeit an Implantaten mit der an Zähnen?
3. Unterscheidet sich die Zytokinkonzentration der Sulkusflüssigkeit an Implantaten mit maschinierter Oberfläche am Abutment von der an Implantaten mit durch Laser mikrostrukturierter (*microgrooved*) Oberfläche am Abutment?
4. Gibt es einen Unterschied im Knochenrückgang bei den beiden verwendeten Implantattypen? Korreliert der radiologisch gemessene Knochenrückgang mit der Zytokinkonzentration in der Sulkusflüssigkeit?

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Es sollte bei Patienten mit Titanimplantaten eine klinische Untersuchung, sowie eine Bestimmung ausgewählter Zytokine in der Sulkusflüssigkeit erfolgen und im Vergleich mit natürlichen Zähnen und zwei verschiedenen Implantat-Abutmenttypen beurteilt werden.

Bei den an der Studie teilnehmenden Patienten wurde an Zähnen und Implantaten Sulkusflüssigkeit entnommen. In der entnommenen Sulkusflüssigkeit wurden folgende sechs Zytokine quantifiziert: IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α . Hierzu wurde ein Multiplex Bead-basierter Immunoassay (CBA, *Cytometric Bead Array*) als Nachweisverfahren verwendet. Dabei werden die verschiedenen Anti-Zytokin-Antikörper-beladenen Beads mit Bindung des entsprechenden Zytokins plus einem markierten Detektionsantikörper in einem Durchflusszytometer quantifiziert. Daraus lässt sich die Konzentration der entsprechenden Zytokine in der Probenflüssigkeit herleiten.

Im Vorfeld der Zytokinmessung wurde außerdem eine Kinetikuntersuchung durchgeführt. Dabei wurde die Zytokinkonzentration nach unterschiedlich langer Elutionsdauer des Teststreifens gemessen und anschließend die beste Untersuchungsbedingung ausgewählt.

Schließlich wurde ein Kontrollversuch durchgeführt. Dabei wurde Sulkusflüssigkeit an gleichen Zähnen und Implantaten von zwei verschiedenen Untersuchern entnommen.

Die Studie wurde von der Ethikkommission bei der LMU München mit Votum vom 28. März 2017 (Projekt Nr. 17-132) freigegeben.

3.2 Patientenkollektiv

Für die vorliegende Arbeit wurden bei 40 Patienten Befunde erhoben. Bei jedem Patienten wurden jeweils ein Implantat und ein natürlicher Zahn untersucht. Die Daten stammen aus zwei zahnärztlichen Praxen:

- Praxis PD Dr. Iglhaut: Bahnhofstraße 20, 87700 Memmingen, Deutschland, im Folgenden Praxis A genannt
- Praxis Dr. Salomon: Auf Kasal 23, 6820 Frastanz, Österreich, im Folgenden Praxis B genannt

In der Praxis A wurden die Patienten mit Implantaten mit durch Laser mikrostrukturierter (*microgrooved*) Oberfläche am Abutment (Fa. BioHorizons) versorgt. In der Praxis B wurden die Patienten mit Implantaten mit maschinierter Oberfläche am Abutment (Fa. Straumann) versorgt.

Das Patientenkollektiv umfasste 20 Patientinnen und 20 Patienten. Der Altersdurchschnitt betrug 61 Jahre. Vier Patienten waren aktuelle Raucher und 36 Patienten waren Nichtraucher. Von der Studie ausgeschlossen wurden schwangere und stillende Frauen. Weitere Ausschlusskriterien waren:

- systemische Erkrankungen, die die Prognose einer Implantatversorgung negativ beeinflussen (z. B. schlecht eingestellter Diabetes mellitus)
- Mundschleimhauterkrankungen
- lokale Bestrahlung in der Vergangenheit
- unbehandelte Gingivitis oder Parodontitis
- unbehandelte endodontische Läsionen
- starker Bruxismus
- eine Taschentiefe über 4 mm bei einem der Zähne die unmittelbar an das Implantat angrenzen
- schlechte häusliche Mundpflege und geringe Compliance
- Konsum von mehr als 20 Zigaretten am Tag

Bei den Patienten wurden multiple klinische und experimentelle Parameter erfasst. Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf die Zytokinkonzentrationen in der Sulkusflüssigkeit und den radiologisch gemessenen Knochenrückgang.

3.3 Klinische Parameter

Die folgenden klinischen Parameter wurden erfasst:

- **Patientennummer**
- **Geschlecht**
- **Alter:** in Jahren
- **Gewicht:** in kg
- **Größe:** in cm
- **Medikamenteneinnahme**
- **Zigarettenkonsum:** Die Patienten wurden in vier Kategorien eingeteilt: aktuelle Nichtraucher und nie geraucht, aktuelle Nichtraucher und früher geraucht, aktuelle Raucher mit weniger als 10 Zigaretten pro Tag und aktuelle Raucher mit 10 bis 20 Zigaretten pro Tag.
- **ASA physical status classification system:** Die Patienten wurden nach der ASA-Klassifikation eingeteilt: gesunder Patient (ASA 1), Patient mit leichter Allgemeinerkrankung (ASA 2), Patient mit schwerer Allgemeinerkrankung (ASA 3). Patienten mit ASA 4 bis 6 wurden von der Studie ausgeschlossen.
- **Full mouth plaque score (FMPS):** Der *full mouth plaque score* beschreibt den prozentualen Anteil der Flächen mit Plaque an der Gesamtzahl aller Zahnflächen. Die Patienten wurden in vier Gruppen eingeteilt: keine Plaque, 0 bis 15 % Plaque, 15 bis 40 % Plaque und 40 bis 100 % Plaque.
- **Full mouth bleeding score (FMBS):** Der *full mouth bleeding score* beschreibt den prozentualen Anteil der Flächen mit Blutung an der Gesamtzahl aller Zahnflächen. Die Patienten wurden in vier Gruppen eingeteilt: keine Blutung, 0 bis 15 % Blutung, 15 bis 40 % Blutung und 40 bis 100 % Blutung.
- **Plaque-Index (PI):** Der Plaque-Index wurde bei jedem Patienten für das untersuchte Implantat und den untersuchten Zahn bestimmt. Hierbei wurde mit

einer Sonde an jeweils sechs Stellen die Plaqueansammlung am Gingivarand beurteilt. Für den PI gibt es vier Kategorien: keine Plaque, Plaque nicht sichtbar und nur mit Sonde detektierbar, moderate Ansammlung von Plaque, die mit Auge erkennbar ist und ausgedehnte Ansammlung von Plaque.

- **Bleeding on probing (BOP):** Der BOP erfasst die Blutung auf Sondieren. Die Sondierung wurde an jeweils sechs Stellen des untersuchten Implantats und des untersuchten Zahns durchgeführt und in zwei Kategorien eingeteilt: Blutung und keine Blutung.
- **Probing pocket depth (PPD):** Die *probing pocket depth* wurde jeweils an dem untersuchten Implantat und dem untersuchten Zahn an sechs Stellen mittels einer standardisierten Parodontalsonde (PCP 12, Hu-Friedy, Chicago, USA) gemessen und in Millimeter angegeben.
- **Mucosal recession (MR):** Die Rezession (Rückgang der Gingiva) wurde jeweils an dem untersuchten Implantat und dem untersuchten Zahn an sechs Stellen mittels einer standardisierten Parodontalsonde (PCP 12, Hu-Friedy, Chicago, USA) gemessen und in Millimeter angegeben.
- **Width of keratinized mucosa (KM):** Die Breite der keratinisierte Mukosa (befestigte Gingiva) wurde bei jedem Patienten für das untersuchte Implantat und den untersuchten Zahn bestimmt. Sie wurde bukkal-mittig mit Hilfe einer standardisierten Parodontalsonde (PCP 12, Hu-Friedy, Chicago, USA) gemessen und in Millimeter angegeben.
- **Knochenrückgang am Implantat:** Der Knochenrückgang (im Zeitraum beginnend mit der Eingliederung der Suprakonstruktion bis mindestens 3 Jahre danach) wurde radiologisch jeweils mesial und distal des Implantats gemessen und in Millimeter angegeben.
- **Liegedauer des untersuchten Implantats:** Die Liegedauer (Zeitraum von Insertion des Implantats bis zur Probenentnahme der Sulkusflüssigkeit) des Implantats wurde erfasst.

3.4 Entnahme von Sulkusflüssigkeit

Bei jedem an der Studie teilnehmenden Patienten wurden Sulkusflüssigkeit-Proben an jeweils einem natürlichen Zahn und einem Implantat genommen.

Hierzu wurden unter relativer Trockenlegung des betreffenden Quadranten jeweils fünf Periopaper®-Streifen in den Sulkus eingeführt und für je 30 Sekunden belassen. Mit Blut kontaminierte Proben wurden verworfen. Die getränkten Periopaper®-Streifen wurden gesammelt (*pooled samples*) in Röhrchen mit Schraubverschluss gegeben, auf Eis gekühlt, in das Labor der Arbeitsgruppe AllergoMat in München (Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Ludwig-Maximilians-Universität München) transportiert und dort bei -80° eingefroren.

3.5 Voruntersuchung Kinetik

Vorbereitend zur Untersuchung der Patientenproben wurde die Kinetik der Elution von Zytokinen aus Teststreifen untersucht. Hierzu wurden zu Teststreifen sechs verschiedener Patienten je 300 µl PBS (4° C) hinzugefügt. Nach fünf Minuten wurden 50 µl entnommen und erneut 50 µl PBS hinzugefügt. Dieser Vorgang wurde nach 15, 30, 60, 90 und 120 Minuten (ausgehend von der ersten PBS-Zugabe) wiederholt. So wurden die Teststreifen über sechs verschiedene Elutionszeiten in PBS eluiert. Während der gesamten Versuchsdauer wurden die Teststreifen auf Eis gekühlt. Anschließend wurden die Zytokinkonzentrationen im Eluat quantifiziert.

3.6 Cytometric bead assay (CBA)

Das CBA ist ein Immunoassay zur Messung verschiedener Proteine aus einer Probe. Dabei wird zu der Probe eine Suspension mit Antikörper-beladenen Kügelchen (Beads) hinzugefügt. Die in der Probe vorhandenen Zytokine binden spezifisch an die Beads. Darauf folgend wird eine Suspension mit fluoreszierenden Antikörpern

hinzugefügt, die wiederum an die an die Beads gebundenen Zytokine binden. So hat jedes Kügelchen eine Zytokin-spezifische Fluoreszenzintensität. Diese Beads können dann in einem Durchflusszytometer quantifiziert werden (BD-Biosciences, 2007). Mit dem CBA können mehrere Zytokine in einer Probe gleichzeitig quantifiziert werden. Dadurch ist diese Technik zeitsparender als ein ELISA und es wird eine kleinere Probenmenge benötigt (Morgan et al., 2004).

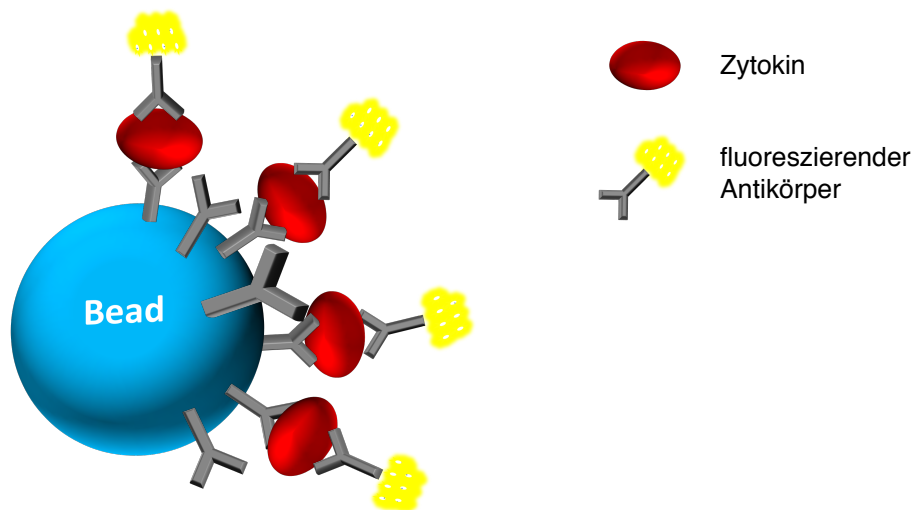


Abbildung 4: Prinzip des Cytometric Bead Array: Antikörper-beladene Beads mit dem zu bestimmenden Zytokin und fluoreszierenden Antikörpern (eigene Darstellung)

3.6.1 Elution aus den Teststreifen

Die verschließbaren Röhrchen mit den mit Sulkusflüssigkeit getränkten Periopaper®-Streifen aus den zwei teilnehmenden Praxiszentren wurden aufgetaut und jeweils 300 µl PBS hinzugefügt. Nach 30 Minuten wurden 300 µl entnommen und eingefroren.

3.6.2 Erstellung der Standardreihe

Für das CBA wurde eine Standardreihe vorbereitet. Dazu wurden gefriergetrocknete Standard-Beads für jedes der 6 zu messenden Zytokine in ein Röhrchen („Top Standard“) gegeben und 4 ml Verdünnungsmittel (*assay diluent*) hinzugefügt.

Es wurden 9 weitere Röhrchen vorbereitet und mit je 500 μ l Verdünnungsmittel gefüllt.

Nach einer Wartezeit von 15 Minuten wurden 500 μ l des Top Standard entnommen, zu den 500 μ l Verdünnungsmittel in das erste vorbereitete Röhrchen gegeben und vermischt. Aus diesem Röhrchen wurden erneut 500 μ l entnommen und zu 500 μ l Verdünnungsmittel des nächsten Röhrchens gegeben. Dieser Vorgang wurde so lange wiederholt, bis 10 Röhrchen mit steigender Verdünnung vorhanden waren, wobei das erste Röhrchen nicht verdünnt wurde und das letzte Röhrchen nur Verdünnungsmittel und keine Beads enthielt.

3.6.3 Vorbereitung der Proben für die Durchflusszytometrie

Zur Vorbereitung der Proben für die Durchflusszytometrie wurden folgende Schritte durchgeführt:

1. **Vorbereitung der *Capture Beads*:** Zunächst wurde anhand der Probenanzahl die benötigte Menge an *Capture Beads* und *Bead Diluent* berechnet. Anschließend wurden sechs verschiedene spezifische *Capture Beads* (für die sechs zu bestimmenden Zytokine) auf dem Vortexmischer gemischt, in ein Röhrchen pipettiert und *Bead Diluent* hinzugegeben.
2. **Zusammenfügen der eluierten Proben mit den *Capture Beads*:** Es wurden Glasröhrchen in der Anzahl der zu bestimmenden Patientenproben vorbereitet. Anschließend wurden die suspendierten *Capture Beads* in die Glasröhrchen gegeben und in einem nächsten Schritt die eluierten Proben (12,5 μ l Aliquots) hinzugefügt. Es folgte eine Wartezeit von 60 Minuten.
3. **Vorbereitung des *Detection Reagents*:** In der Wartezeit wurde entsprechend dem ersten Schritt die benötigte Menge an *Detection Reagent* und *Detection Reagent Diluent* berechnet. Es wurden sechs verschiedene spezifische *Detection Reagents* (für die sechs zu bestimmenden Zytokine) auf dem Vortexmischer vermischt, in ein Röhrchen pipettiert und *Detection Reagent Diluent*

hinzugegeben. Dieses Röhrchen wurde zum Lichtschutz mit Aluminiumfolie umhüllt.

4. **Hinzufügen des *Detection Reagents*:** Nach der Wartezeit von 60 Minuten wurden die suspendierten *Detection Reagents* zu den Glasröhrchen hinzugefügt, die schon *Capture Beads* und die eluierten Proben enthielten. Es folgte eine weitere Wartezeit von 120 Minuten.
5. **Waschvorgang:** Es folgte der Waschvorgang. Hierzu wurde allen Proben 250 µl Waschpuffer hinzugefügt und die Proben wurden für 5 Minuten bei 300 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und den Proben wurde erneut 150 µl Waschpuffer hinzugefügt. Vor der Messung am Durchflusszytometer wurden die Proben auf dem Vortexmischer gemischt um das Pellet aus mit Zytokin beladenen Beads zu resuspendieren.

3.6.4 Durchflusszytometrie

Die Durchflusszytometrie ist ursprünglich eine Methode zur Quantifizierung und Analyse von Einzelzellen, kann aber auch für die Quantifizierung von mit Fluoreszenz markierten Molekülen eingesetzt werden.

Daher können Anti-Zytokin-Antikörper-beladene Beads, mit Bindung des entsprechenden Zytokins plus einem markierten Detektionsantikörper, mit dieser Methode quantifiziert und analysiert werden. Die vorbereiteten Patientenproben, sowie die Proben der Standardreihe und die Proben der Voruntersuchung Kinetik wurden am Durchflusszytometer BD FACS Canto (Fa. BD Biosciences) untersucht.

3.7 Laborgeräte und Verbrauchsmaterialien

3.7.1 Geräte

Zentrifuge Rotana 460 R

Hettich Zentrifugen

Vortex Press-to-Mix

Snijders, Tilburg, Niederlande

Vortex Genie 2	Scientific Industries, New York, USA
Kühlschrank (4°C)	Liebherr, Bulle FR, Schweiz
Gefriertruhe (-80°C)	Liebherr, Bulle FR, Schweiz
BD FACS Canto	BD Biosciences, Franklin Lakes, USA

3.7.2 Verbrauchsmaterialien

- Pipettenspitzen Biosphere Filter Tips (2 bis 100 µl)
- Pipettenspitzen Safe Seal Tips Professional (100 µl) steril
- Rundboden Röhrchen (5 ml) Länge: 75 mm, Durchmesser: 12 mm
- Safe Seal Reagiergefäße (1,5 ml)
- Multipipette plus, Eppendorf
- Eppendorf Pipette Reference (0,5 bis 10 µl; 2 bis 20 µl; 1 bis 100 µl), Eppendorf

3.7.3 Human Soluble Protein Master Buffer Kit (BD Biosciences, Franklin Lakes, USA)

- Assay Diluent
- Capture Bead Diluent
- Detection Reagent Diluent
- Wash Buffer
- Instrument Setup Reagents

3.7.4 Human Flex Set (für IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α)

- Human Capture Bead
- Human PE Detection
- Human Standard

3.7.5 Lösungen für die FACS-Analyse

- FACS Clean

- FACS Flow
- FACS Shutdown Solution

3.7.6 Software

- Microsoft Word
- Microsoft Excel
- Microsoft PowerPoint: Erstellen von Abbildungen
- Graphpad Prism 8: statistische Datenanalyse und Abbildungen
- Endnote (Clarivate Analytics): Zitierprogramm

3.8 Datenanalyse und Statistik

Die statistische Datenanalyse erfolgte mit dem Programm Graphpad Prism 8. Zum quantitativen Vergleich der Mittelwerte zweier unverbundener, nicht normalverteilter Gruppen wurde der Man-Whitney Test verwendet. Zur statistischen Untersuchung von Korrelationen wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet. Bei der statistischen Analyse wurde ein p-Wert von kleiner 0,05 als signifikant gewertet.

4 Ergebnisse

4.1 Allgemeine Patientencharakteristika

In den beiden an der Studie teilnehmenden Praxiszentren wurden zwei unterschiedliche Implantattypen inseriert:

- In der Praxis A wurden spezielle Implantate mit durch Laser mikrostrukturierter (*microgrooved*) Oberfläche (sogenannte LaserLok-Oberfläche) am Abutment verwendet (Fa. BioHorizons)
- In der Praxis B wurden Implantate mit maschinierter Oberfläche am Abutment verwendet (Fa. Straumann)

Diese zwei Patientengruppen wiesen die in Tabelle 1 ersichtlichen Charakteristika auf.

Tabelle 1: Patientencharakteristika der an der Studie teilnehmenden Patienten ($n = 40$)

	Implantate mit mikrostrukturierter Abutmentoberfläche	Implantate mit maschinierter Abutmentoberfläche
Liegedauer des Implantats	3,6 Jahre (SD = 1,3)	2,6 Jahre (SD = 0,7)
Geschlecht	7 (35 %) Männer 13 (65 %) Frauen	13 (65 %) Männer 7 (35 %) Frauen
Alter	62 Jahre (SD = 11,7) von 39 Jahre bis 80 Jahre	61 Jahre (SD = 13,3) von 33 Jahre bis 79 Jahre
Zigarettenkonsum	17 (85 %) Nichtraucher 3 (15 %) Raucher	19 (95 %) Nichtraucher 1 (5 %) Raucher
ASA score (ASA physical status classification system)	12 (60 %) ASA 1 8 (40 %) ASA 2 0 (0 %) ASA 3	10 (50 %) ASA 1 9 (45 %) ASA 2 1 (5 %) ASA 3

Aufgrund der geringen Anzahl von Rauchern (10 %) bei den untersuchten Patienten konnte der Zusammenhang der Zytokinkonzentration mit Zigarettenkonsum in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht werden.

4.2 Voruntersuchung Kinetik: Optimale Elutionsdauer von Zytokinen aus Teststreifen

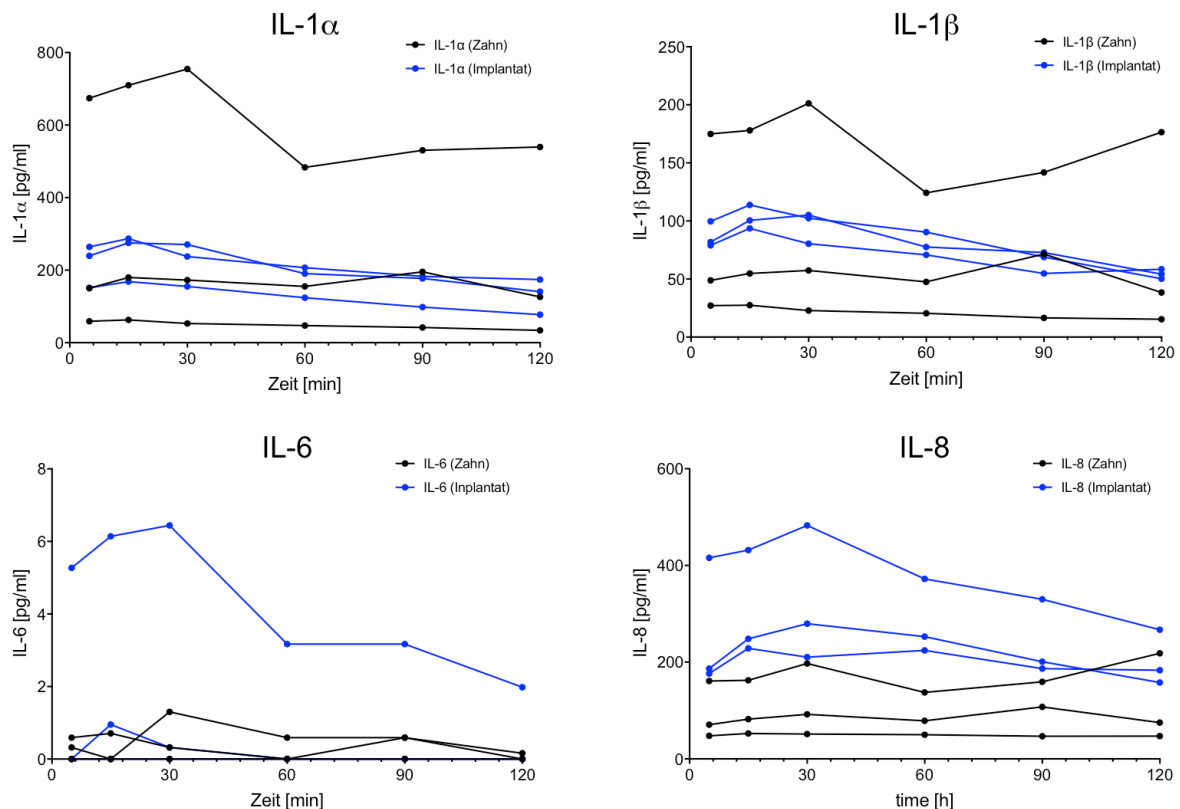


Abbildung 5: Konzentrationen [pg/ml] von IL-1α, IL-1β, IL-6 und IL-8 in der entnommenen Sulkusflüssigkeit an je einem Zahn und je einem Implantat von Patienten (n = 3) nach einer Elutionsdauer von 5, 15, 30, 60, 90 und 120 min

Mit steigender Elutionsdauer kommt es durch zwei Einflüsse zu einer Abnahme der Zytokinkonzentration: zum einen durch die Verdünnung im Versuchsablauf und zum anderen durch Abbau der Zytokine z. B. durch Proteasen in der Elutionsflüssigkeit. Ziel der Kinetikuntersuchung war es, ein Optimum zwischen der maximal möglichen Elution und einer möglichst geringen Abnahme der Zytokinkonzentration durch Verdünnung und Abbau zu finden.

Es zeigte sich, dass die durchschnittliche maximale Zytokinkonzentration nach 30 Minuten erreicht wurde und dass eine noch längere Elutionsdauer nicht zu einer höheren Zytokinkonzentration im Eluat führt. Daher wurde für den Hauptversuch eine Elutionszeit von 30 Minuten festgelegt.

4.3 Vergleich der Zytokinkonzentration in Sulkusflüssigkeit an Implantaten mit der an Zähnen desselben Patienten

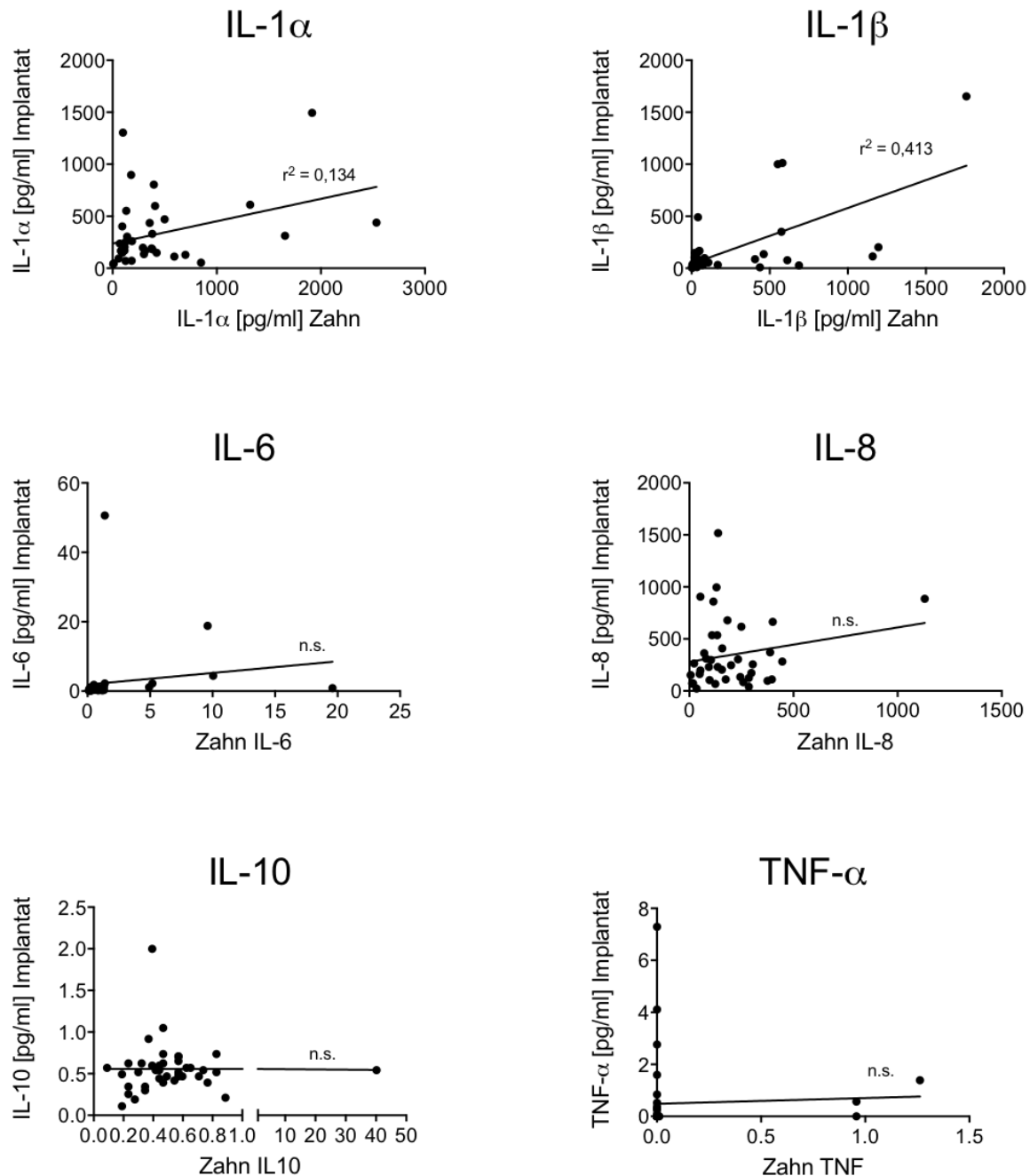


Abbildung 6: Konzentrationen [pg/ml] von IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α ; Vergleich der Werte an je einem Zahn und je einem Implantat desselben Patienten ($n = 40$)

Bei jedem an der Studie teilnehmenden Patienten wurden zwei Proben von Sulkusflüssigkeit entnommen: an einem natürlichen Zahn und an einem Implantat.

Für IL-1 α ($r^2 = 0,134$; $p = 0,020$; Korrelation nach Pearson) und IL-1 β ($r^2 = 0,413$; $p < 0,001$; Korrelation nach Pearson) zeigte sich eine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Konzentration in der Zahnsulkusflüssigkeit und der Implantatsulkusflüssigkeit bei jeweils demselben Patienten. Für alle anderen gemessenen Zytokine (IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α) fand sich keine statistisch signifikante Korrelation zwischen den Konzentrationen in der Zahnsulkusflüssigkeit und in der Implantatsulkusflüssigkeit bei jeweils demselben Patienten.

Des Weiteren wurde untersucht, ob es einen Unterschied in den Konzentrationen der Interleukine IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8 und IL-10 und TNF- α bei männlichen und weiblichen Patienten gibt. Dabei zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied für IL-1 α ($p = 0,711$), IL-1 β ($p = 0,574$), IL-8 ($p = 0,930$) und IL-10 ($p = 0,846$) und TNF- α ($p = 0,259$). Die IL-6-Konzentrationen bei männlichen Patienten waren rechnerisch signifikant höher als bei weiblichen Patienten ($p < 0,001$). Allerdings ist die Bewertung dieses Unterschieds eingeschränkt, da die gemessenen IL-6-Konzentrationen unter der niedrigsten Konzentrationsstufe der Standard-Verdünnungsreihe (10 pg/ml) und damit unter der Nachweisgrenze des Assays lagen.

4.4 Vergleich der Zytokinkonzentration in Sulkusflüssigkeit an Implantaten mit maschinierter Abutmentoberfläche mit der an Implantaten mit mikrostrukturierter (*microgrooved*) Abutmentoberfläche

In der Sulkusflüssigkeit von **Implantaten** zeigt sich bei der Konzentration von IL-6 ein Mittelwert (jeweils mit SEM) von $0,34 \pm 0,07$ pg/ml bei Patienten mit mikrostrukturierter Abutmentoberfläche und ein Mittelwert von $4,6 \pm 2,6$ pg/ml bei Patienten mit maschinierter Abutmentoberfläche. Dieser Unterschied war rechnerisch signifikant ($p < 0,001$; Mann-Whitney Test). Da die IL-6-Konzentrationen unter der niedrigsten Konzentrationsstufe der Standard-Verdünnungsreihe (10 pg/ml) und damit unter der Nachweisgrenze des Assays lagen, ist auch hier die Bewertung dieses Unterschieds eingeschränkt.

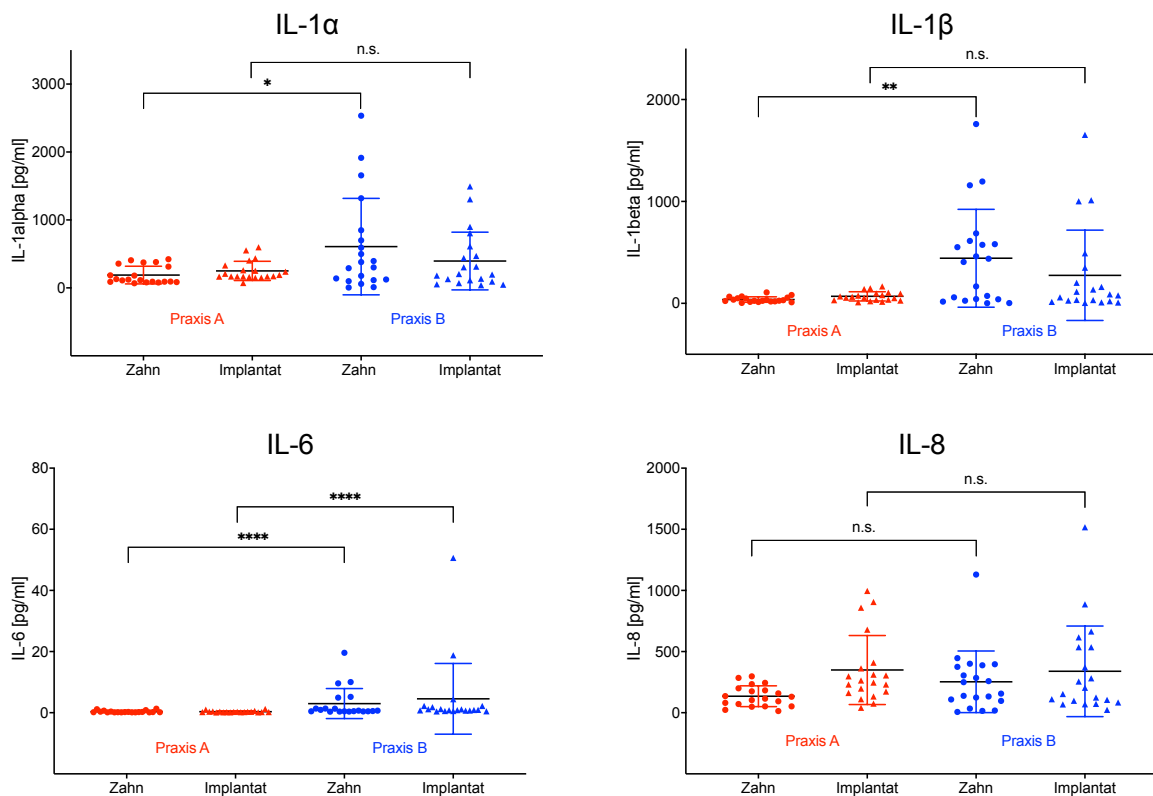


Abbildung 7: Konzentrationen [pg/ml] von IL-1α, IL-1β, IL-6 und IL-8 in der entnommenen Sulkusflüssigkeit an je einem Zahn und je einem Implantat von Patienten ($n = 20$) in Praxis A (hier Implantate mit Laser-mikrostrukturierter Abutmentoberfläche) und von je einem Zahn und je einem Implantat von Patienten ($n = 20$) in Praxis B (hier Implantate mit maschinierter Abutmentoberfläche)
 $*p < 0,05$; $**p < 0,01$; $****p < 0,001$

Für IL-1α waren die Konzentrationen an mikrostrukturierter Abutmentoberfläche versus maschinierter Abutmentoberfläche 250 ± 32 pg/ml versus 396 ± 95 pg/ml. Für IL-1β waren die Konzentrationen an mikrostrukturierter Abutmentoberfläche versus maschinierter Abutmentoberfläche 69 ± 10 pg/ml versus 275 ± 99 pg/ml. Für IL-8 waren die Konzentrationen an mikrostrukturierter Abutmentoberfläche versus maschinierter Abutmentoberfläche 350 ± 63 pg/ml versus 339 ± 83 pg/ml. Die Unterschiede bei diesen drei Zytokinen waren jeweils nicht signifikant.

In der Sulkusflüssigkeit von **Zähnen** zeigt sich bei der Konzentration von IL-6 ein Mittelwert von $0,36 \pm 0,08$ pg/ml bei Patienten mit mikrostrukturierter Abutmentoberfläche und ein Mittelwert von $3,0 \pm 1,1$ pg/ml bei Patienten mit maschinierter Abutmentoberfläche. Dieser Unterschied war signifikant ($p < 0,001$;

Mann-Whitney Test). Allerdings lagen auch hier für IL-6 die Konzentrationen unter der Nachweisgrenze des Assays. Auch für die Konzentration von IL-1 α mit einem Mittelwert bei mikrostrukturierter Abutment versus maschiniertem Abutment von 189 ± 29 pg/ml versus 608 ± 159 pg/ml war der Unterschied signifikant ($p = 0,040$; Mann-Whitney Test). Für die IL-1 β -Konzentration zeigte sich bei Patienten mit mikrostrukturierter Abutmentoberfläche ein Mittelwert von 38 ± 6 pg/ml und bei Patienten mit maschinierter Abutmentoberfläche ein Mittelwert von 443 ± 107 pg/ml. Auch dieser Unterschied war signifikant ($p = 0,002$; Mann-Whitney Test).

Für IL-8 waren die Konzentrationen an mikrostrukturierter Abutmentoberfläche versus maschinierter Abutmentoberfläche 135 ± 19 pg/ml versus 253 ± 56 pg/ml. Dieser Unterschied war nicht signifikant.

Wie oben beschrieben, ergibt sich bei dem Vergleich der beiden verwendeten Implantattypen für IL-6 ein höherer Mittelwert in den Proben aus Praxis B. Es kann aber nicht differenziert werden, ob diese Erhöhung auf dem Implantattyp oder auf der Zentrumszugehörigkeit beruht, da auch in den Sulkusproben der Zähne eine etwa gleich hohe Differenz im Mittelwert besteht. Darüber hinaus lagen die Werte für IL-6 – auch absolut – in einem sehr niederen Bereich (unter 10 pg/ml) und damit zwei log-Stufen niedriger als die Konzentrationen von IL-1 α , IL-1 β und IL-8.

Die Mittelwerte für TNF- α und IL-10 lagen in einem sehr niederen Bereich (unter 2 pg/ml, entsprechend 1/5 der niedrigsten Konzentration der Standardkurve) und damit unterhalb der Nachweisgrenze des Assays. Die Werte für diese Zytokine sind in die Abbildungen nicht aufgenommen.

Auffällig waren die für alle Zytokine höheren Messwerte der Proben aus Praxis B (z. B. bis zu 2.000 pg/ml IL-1 α an Implantaten) im Vergleich zu denen aus Praxis A. Die Tatsache, dass nicht nur bei den Proben an Implantaten, sondern auch bei den Proben an Zähnen höhere Messwerte vorliegen, könnte für einen Unterschied im Zahnstatus der beiden Patientenkohorten oder für eine Abweichung der Methodik bei

der Probenentnahme in den beiden Praxiszentren sprechen, und nicht für einen Unterschied durch die zwei verschiedenen Implantatmodelle.

Die Sulkusflüssigkeit-Proben wurden von zwei verschiedenen Studienmitarbeitern entnommen: Untersucher A in Praxis A und Untersucher B in Praxis B. Um einen Einfluss durch die Methodik bei der Probenentnahme durch die zwei verschiedenen Untersucher zu beurteilen, wurde ein **Kontrollversuch** am Uniklinikum in München durchgeführt. Dabei wurden von beiden Untersuchern bei den gleichen vier freiwilligen Probanden Proben entnommen. Hierbei fanden sich tatsächlich Unterschiede in der gemessenen Zytokinkonzentration, allerdings nicht in einem Ausmaß, das die hohen Messwerte bei Patienten aus Praxis B erklären würde.

Tabelle 2: Kontrollversuch: Konzentrationen [pg/ml] von IL-1 α , IL-1 β , IL-6 und IL-8 in der entnommenen Sulkusflüssigkeit von Probanden ($n = 4$) von Untersucher A aus Praxis A und Untersucher B aus Praxis B

Proband	Probe	IL-1 α [pg/ml]		IL-1 β [pg/ml]		IL-6 [pg/ml]		IL-8 [pg/ml]	
		A	B	A	B	A	B	A	B
01	Implantat	19,4	11,8	5,7	6,3	0,0	0,0	16,7	20,0
	Zahn	0,9	34,1	2,9	6,4	0,0	21,8	0,0	88,7
02	Implantat	7,9	0,0	4,8	3,9	0,0	0,0	6,1	2,8
	Zahn	31,4	26,7	9,1	4,9	0,0	0,0	33,9	38,4
03	Zahn	33,1	53,4	7,4	19,5	0,0	25,9	12,6	103,5
04	Zahn	12,2	0,0	6,0	3,6	0,0	0,0	28,0	6,9

4.5 Vergleich des radiologisch gemessenen Knochenrückgangs mit der Zytokinkonzentration in der Sulkusflüssigkeit

Eine Folge der Periimplantitis ist der Rückgang des Alveolarknochens. Daher wurde radiologisch das periimplantäre Knochenniveau bei Eingliederung der Suprakonstruktion (nach Abschluss der Einheilungsphase) und zu einem späteren

Zeitpunkt (Kontrollaufnahme nach drei bis vier Jahren) bestimmt. Aus der Differenz dieser beiden Werte wurde der Knochenrückgang in mm berechnet.

Der mittlere Knochenrückgang bei Implantaten mit maschinierter Abutmentoberfläche ($0,7 \pm 0,1$ mm) war nicht signifikant unterschiedlich zu dem bei Implantaten mit mikrostrukturierter Abutmentoberfläche ($0,5 \pm 0,1$ mm).

Zum Knochenrückgang trägt die lokale inflammatorische Wirkung der Zytokine bei (Masada et al., 1990). Daher liegt es nahe, das Ausmaß der Knochenrückgangs mit der Zytokinkonzentration in der Sulkusflüssigkeit zu vergleichen.

Es zeigte sich eine statistisch signifikante Korrelation zwischen dem radiologisch gemessenen maximalen Knochenrückgang und der IL-1 α - und IL-1 β -Konzentration eines Implantats bei den Patienten mit Implantaten mit maschinierter Abutmentoberfläche (Abbildung 6; IL-1 α : $r^2 = 0,35$; $p = 0,006$; IL-1 β : $r^2 = 0,42$; $p = 0,002$; Korrelation nach Pearson).

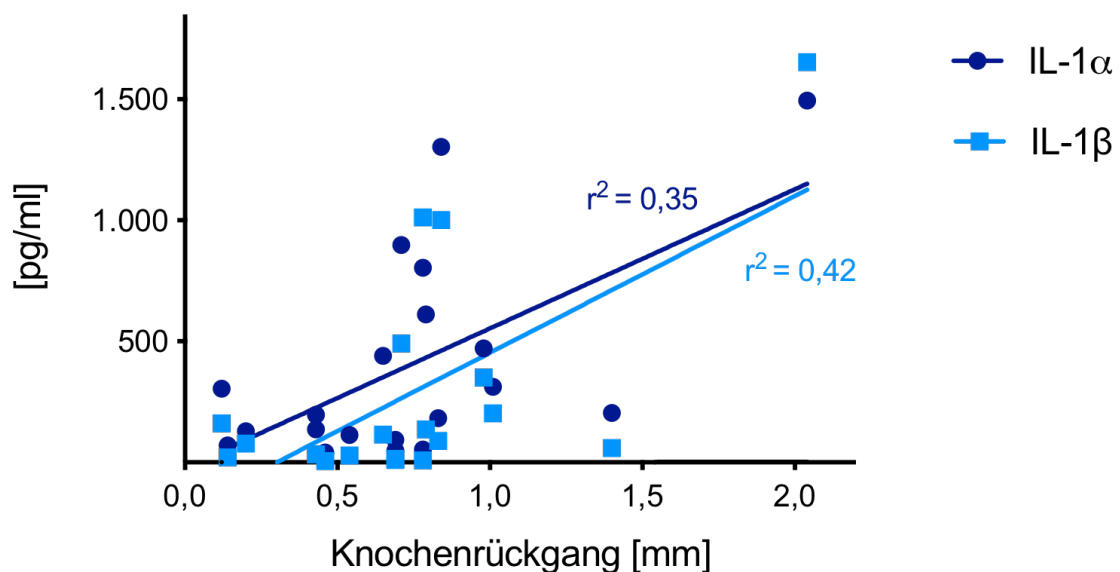


Abbildung 8: Korrelation zwischen radiologisch gemessenen Knochenrückgang und der gemessenen IL-1 α - und IL-1 β -Konzentration in der Sulkusflüssigkeit an Implantaten mit maschinierter Oberfläche ($n = 20$)

Für die Konzentration der anderen vier Zytokine (IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α) bei Implantaten mit maschinierter Abutmentoberfläche (Praxis B) sowie für alle Zytokinkonzentrationen an Implantaten mit mikrostrukturierter Abutmentoberfläche (Praxis A) zeigte sich keine signifikante Korrelation.

Tabelle 3: Korrelation von radiologisch gemessenen Knochenrückgang [mm] mit der Konzentration [pg/ml] von IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α in der entnommenen Sulkusflüssigkeit an Implantaten mit mikrostrukturierter Abutmentoberfläche (Praxis A)

Implantate mit mikrostrukturierter Abutmentoberfläche	IL-1 α	IL-1 β	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α
r^2	0,04	0,05	0,13	< 0,01	0,11	< 0,01
p (zweiseitig)	0,403	0,339	0,112	0,875	0,146	0,726
Signifikanz	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.

Tabelle 4: Korrelation von radiologisch gemessenen Knochenrückgang [mm] mit der Konzentration [pg/ml] von IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α in der entnommenen Sulkusflüssigkeit an Implantaten mit maschinierter Abutmentoberfläche (Praxis B)

Implantate mit maschinierter Abutmentoberfläche	IL-1 α	IL-1 β	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α
r^2	0,35	0,41	< 0,01	0,06	< 0,01	< 0,01
p (zweiseitig)	0,006	0,002	0,973	0,316	0,771	0,924
Signifikanz	**	**	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.

5 Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Bei vorliegender Studie wurden bei 40 Patienten Proben von Sulkusflüssigkeit an je einem Zahn und einem Implantat entnommen und daraufhin die Konzentration sechs verschiedener Zytokine gemessen. Für IL-1 α und IL-1 β zeigte sich eine Korrelation zwischen der Konzentration in der Sulkusflüssigkeit bei Zähnen mit der bei Implantaten beim jeweils selben Patienten. Für IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α zeigte sich keine Korrelation.

Die Hälfte der Patienten hatte an dem untersuchten Implantat Abutments mit glatter (*machined*) Oberfläche, die andere Hälfte der Patienten hatte Abutments mit mikrostrukturierter Oberfläche. Zwischen diesen beiden Gruppen fand sich für die Konzentrationen von IL-1 α , IL-1 β , IL-8, IL-10 und TNF- α kein signifikanter Unterschied. Die IL-6-Konzentration war in der Sulkusflüssigkeit der Implantate mit glatter Abutmentoberfläche im Vergleich zu Implantaten mit mikrostrukturierter Abutmentoberfläche signifikant erhöht, allerdings in einem Konzentrationsbereich nahe oder unter der Nachweisgrenze des Assays.

Des Weiteren wurde bei allen Patienten der Knochenrückgang an den Implantaten gemessen. Auch hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Abutmenttypen. Allerdings korrelierten bei den Patienten mit glatter Abutmentoberfläche die IL-1 α - und IL-1 β -Konzentrationen mit dem Knochenrückgang.

5.2 Diskussion der Methodik

5.2.1 Entnahme der Sulkusflüssigkeit

Es gibt verschiedene Methoden zur Entnahme von Sulkusflüssigkeit. Sie lassen sich in drei Gruppen einteilen: a. Waschtechniken mittels Injektionsnadeln, b. Mikro-

kapillartechniken, bei denen mittels Mikrokapillarpipetten Sulkusflüssigkeit entnommen wird und c. Absorptionstechniken durch Einlage von Filterpapier über einen definierten Zeitraum, meistens 30 Sekunden (Nazar Majeed et al., 2016; Salonen et al., 1991). Die am häufigsten angewandte Methode ist die Entnahme mittels standardisierter Filterpapierstreifen, z. B. Periopaper®-Streifen. Dabei kann gegebenenfalls das aufgenommene Volumen mit einem Periotron-Messgerät bestimmt werden (Barros et al., 2016).

Auch bei der vorliegenden Arbeit erfolgte die Entnahme der Sulkusflüssigkeit durch Einlage (30 Sekunden) von Periopaper®-Streifen in den Zahn- oder Implantatsulkus mit anschließendem Einfrieren der Filterpapierstreifen.

Zu einem späteren Zeitpunkt wird aus den gefrorenen Filterpapierstreifen die Sulkusflüssigkeit in einem definierten Volumen eluiert und die Zytokinkonzentration in pg/ml Elutionsflüssigkeit bestimmt. Ab diesem Punkt werden zwei Vorgehensweisen unterschieden. Eine Möglichkeit ist die Angabe der Konzentration in der *Elutionsflüssigkeit*, die – bei definiertem Volumen der Elutionsflüssigkeit – der Gesamtmenge des in den Filterstreifen aufgenommenen Zytokins entspricht. Bei dieser Methode wird die Menge an absorbierter Sulkusflüssigkeit nicht bestimmt. Bei der anderen Möglichkeit wird zusätzlich durch Kenntnis des absorbierten Flüssigkeitsvolumens mittels Periotron-Messgerät die Zytokinkonzentration in pg/ml *Sulkusflüssigkeit* berechnet und angegeben (Barros et al., 2016).

Laut Barros et al. (2016) hat die Messung des Sulkusflüssigkeitsvolumens mit einem Periotron-Messgerät den Vorteil, dass dadurch die Errechnung der Zytokinkonzentration in der Sulkusflüssigkeit unabhängig vom Flüssigkeitsvolumen in der Tasche und der Fließrate möglich ist. Zusätzlich ist die Messung des Sulkusflüssigkeitsvolumens für sich genommen schon als Indikator für entzündliche Vorgänge nützlich. Andererseits entsteht durch die Volumenmessung der Sulkusflüssigkeit (vor allem bei sehr großen oder sehr kleinen Volumina) eine zusätzliche potentielle Fehlerquelle im Analyseablauf (Wassall et al., 2016). Daher bevorzugen viele Autoren die Angabe der Gesamtmenge des Zytokins ohne

Messung des Sulkusflüssigkeitsvolumens. Laut Wassal und Preshaw (2016) sind aber beide Methoden etabliert. Wir haben in der hier vorliegenden Studie wegen des Risikos der zusätzlichen Fehlerquelle auf die Volumenmessung mittels eines Periotron-Messgeräts verzichtet.

Das Volumen der Sulkusflüssigkeit setzt sich aus zwei Teilen zusammen: der lokalen Sulkusflüssigkeit, die vom Volumen der Sulkustasche abhängt und unabhängig von der Fließrate ist und der Sulkusflüssigkeit, die konstant gebildet wird und von der Fließrate abhängig ist. Wenn beispielsweise die Taschentiefe von 3 mm auf 6 mm zunimmt, nimmt das lokale Volumen um 100 % zu.

Die Entnahme der Sulkusflüssigkeit erfolgte in den zwei Praxiszentren von zwei verschiedenen Studienmitarbeitern. Trotz sorgfältiger, standardisierter Entnahmetechnik könnte man vermuten, dass es durch die zwei verschiedenen Untersucher unbewusst zu unterschiedlichen Abnahmeergebnissen und damit zu unterschiedlichen Zytokinmessungen kommt. Um dies auszuschließen, wurde ein Kontrollversuch durchgeführt. Dabei wurden Proben bei vier freiwilligen, gesunden Probanden an jeweils denselben Zähnen und Implantaten von diesen beiden Untersuchern entnommen. Die Proben wurden jeweils distal und mesial des Zahnes oder des Implantats entnommen, da ansonsten bei der zweiten Probenentnahme weniger Sulkusflüssigkeit vorhanden gewesen wäre. Die gemessenen Zytokin-Konzentrationen bestätigten, dass es zu keinen relevanten Messunterschieden durch die beiden Untersucher kam. Die moderaten Unterschiede bei den Messungen lassen sich in unseren Augen durch die unterschiedliche Entnahmestellen (mesial und distal) erklären. Sie sind nicht so groß, dass sie die Divergenzen der Zytokinkonzentration des Hauptversuchs erklären würden.

Dies ist auch ein wichtiger Aspekt für die klinische Anwendung: Da es bei der Entnahme durch unterschiedliche Zahnärzte – zumindest bei standardisierter Vorgehensweise – zu keinen signifikanten Messunterschieden kommt, ist die *chair-side*-Messung von Zytokinen in der Sulkusflüssigkeit ein interessanter Ansatz für eine reproduzierbare Beurteilung parodontaler und periimplantärer Verhältnisse.

5.2.2 Messung der Zytokine

Zur Analyse von Zytokinen in der Sulkusflüssigkeit sind sensitive Methoden erforderlich, da das Probenvolumen klein ist und die Zytokinkonzentration niedrig sein kann. Techniken zur Analyse von Zytokinen sind Bioassays, Radioimmunoassays und ELISA, sowie Multiplex-Assays zur gleichzeitigen Quantifizierung verschiedener Zytokine in einer Probe. In der parodontalen Forschung wird meistens ELISA zur Analyse von Zytokinen in der Sulkusflüssigkeit verwendet (Wassall et al., 2016).

ELISA ist ein Immunoassay und eine bewährte Methode zum Nachweis von Antigenen. Die unbekannten Proben werden hierbei in Vertiefungen von Mikrotiterplatten gegeben und ein spezifischer Antikörper wird hinzugefügt. Ein zweiter Antikörper bindet an den bereits vorhandenen Antikörper. Ein Ligand wird hinzugefügt, der an den gebundenen Antikörper bindet und selbst kovalent an ein Enzym (z. B. Peroxidase) gekoppelt ist. Der gebundene Ligand wird durch Zugabe eines Chromogens sichtbar gemacht. Über die Messung der Farbintensität kann die Menge des Zytokins durch Vergleich mit einer Standardkurve bestimmt werden. ELISA stehen für eine große Anzahl von Proteinen zur Verfügung, die für die Pathogenese von Parodontalerkrankungen relevant sind. Da das Probenvolumen von Sulkusflüssigkeit gering ist, kann aber für eine Probe nur eine geringe Anzahl an Zytokinen mittels ELISA bestimmt werden (Elshal et al., 2006; Wassall et al., 2016).

Ein neuerer Ansatz sind **Multiplex-Immunoassays** (Morgan et al., 2004; Varro et al., 2007). Sie ermöglichen die gleichzeitige Quantifizierung mehrerer Zytokine in einer Probe. Auf Grundlage des ELISA-Prinzips wurden zwei Assayformate entwickelt: planare Assays und Bead-basierte Assays. In planaren Assays befinden sich verschiedene Einfangantikörper an definierten Positionen auf einem zweidimensionalen Array, z. B. einer vorbeschichteten Mikrotiterplatte. Bei Bead-basierten Assays binden die Antikörper an spezifische Beads, deren Fluoreszenzintensität in einem Durchflusszytometer gemessen werden kann (siehe 3.6. *Cytometric bead assay*). Beide Methoden verwenden eine Standardkurve

bekannter Konzentrationen von Zytokinen um unbekannte Zytokinkonzentrationen zu quantifizieren (Wassall et al., 2016). So stellen Multiplex-Immunoassays einen methodischen Fortschritt bei der Messung von Zytokinen dar. Sie ermöglichen, dass auch bei geringer Probenmenge mehrere Zytokine in einer Probe gleichzeitig quantifiziert werden können (Morgan et al., 2004). Die gleichzeitige Messung mehrerer Zytokine ist zeitsparend (Moncunill et al., 2014). Nachteil der Multiplex-Assays sind die höheren Kosten (Wassall et al., 2016).

In der vorliegenden Studie wurde die Zytokinkonzentration mit dem Cytometric Bead Array (Fa. BD Biosciences) als Multiplex-Immunoassay ermittelt.

Bei der Untersuchung von Sulkusflüssigkeit müssen viele Variablen in Bezug auf die Probenentnahme, Elution, Lagerung, Analyse und Darstellung von Daten berücksichtigt werden. Die Ergebnisse geben aber wichtige Informationen für das Verständnis der parodontalen Pathogenese, insbesondere wenn *site*-spezifische Informationen erforderlich sind (Wassall et al., 2016). Wir konnten beispielsweise durch Vorversuche die Elutionsbedingungen optimieren (siehe 4. 2. Voruntersuchung Kinetik: Optimale Elutionsdauer von Zytokinen aus Teststreifen).

5.3 Vergleich mit der Literatur

Schon seit 1995 wurde in zahlreichen Studien die Zytokinkonzentration in der Sulkusflüssigkeit bei Implantaten mit und ohne Periimplantitis untersucht. Einen Überblick gibt Tabelle 5.

Man sieht, dass in der Mehrheit der insgesamt 19 Arbeiten jeweils 20 bis 50 Patienten mit Implantaten untersucht wurden. Die Arbeiten von Aboyoussef et al. (74 Patienten), Rakic et al. (110 Patienten), und Wang et al. (68 Patienten) untersuchten mehr als 50 Patienten. In der vorliegenden Arbeit wurden 40 Patienten untersucht.

Tabelle 5: Übersicht über Studien zur Quantifizierung von Zytokinen bei Implantaten, basierend auf Duarte et al. (2016)

Autor	Zahl der Patienten		Quantifizierte Zytokine	Angabe der Quantifizierung	Hauptbefund bei Periimplantitis
	Ohne Periimplantitis	Mit Periimplantitis			
Kao et al. (1995)	12	12	IL-1 β	Nicht angegeben	IL-1 β ↑
Aboyoussef et al. (1998)	Keine Angabe (n = 37 Implantate)	Keine Angabe (n = 37 Implantate)	IL-1 β	Gesamtmenge (Konzentration im Eluat)	IL-1 β ↑
Hultin et al. (2002)	19	17	IL-1 β	Konzentration in der Sulkusflüssigkeit	IL-1 β unverändert
Murata et al. (2002)	Keine Angabe (n = 20 Implantate)	Keine Angabe (n = 6 Implantate)	IL-1 β	Konzentration in der Sulkusflüssigkeit	IL-1 β ↑
Zhang et al. (2005)	Keine Angabe (n = 23 Implantate)	Keine Angabe (n = 8 Implantate)	IL-6	Konzentration in der Sulkusflüssigkeit	IL-6 ↑
Lachmann et al. (2007)	18	11	IL-1 β	Konzentration in der Sulkusflüssigkeit	IL-1 β unverändert
Duarte et al. (2009)	10	15	IL-4, IL-10, IL-12, TNF- α , RANKL	Gesamtmenge (Konzentration im Eluat)	IL-6 ↑; IL-4, IL-10, IL-12 und RANKL unverändert
Sarlati et al. (2012)	Keine Angabe (n = 13 Implantate)	Keine Angabe (n = 13 Implantate)	RANKL	Konzentration in der Sulkusflüssigkeit	RANKL unverändert
Severino et al. (2011)	11	14	IL-6, IL-8, IL-10, IL-17,	Gesamtmenge (Konzentration im Eluat)	IL-17 ↑; IL-6, IL-8 und IL-10 unverändert
Arikan et al. (2011)	16	12	RANKL	Konzentration in der Sulkusflüssigkeit und Gesamtmenge (Konzentration im Eluat)	RANKL ↓ bei Konzentration in der Sulkusflüssigkeit; RANKL unverändert bei Gesamtmenge
Melo et al. (2012)	31	16	IL-1 β , IL-6	Konzentration in der Sulkusflüssigkeit	IL-1 β und IL-6 unverändert
Rakic et al. (2013)	25	23	RANKL	Konzentration in der Sulkusflüssigkeit	RANKL ↑
Darabi et al. (2013)	18	24	TNF- α , IL-17	Gesamtmenge (Konzentration im Eluat)	TNF- α und IL-17 ↑
Casado et al. (2013)	10	10	IL-1 β , IL-10	Konzentration in der Sulkusflüssigkeit	IL-1 β ↑, IL-10 ↓
Rakic et al. (2014)	58	52	RANKL	Konzentration in der Sulkusflüssigkeit	RANKL ↑
Yaghobee et al. (2014)	8	8	IL-1 β , IL-6	Gesamtmenge (Konzentration im Eluat)	IL-1 β und IL-6 ↑
Ata-Ali et al. (2015)	22	13	IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8, IL-10	Konzentration in der Sulkusflüssigkeit	IL-1 β , IL-6, TNF- α und IL-10 ↑; IL-8 unverändert
Wang et al. (2016)	34	34	IL-1 β	Gesamtmenge (Konzentration im Eluat)	IL-1 β ↑
Lira-Junior et al. (2019)	20 (Mukositis)	23 (Peri-implantitis)	IL-1 β , IL-34, CSF-1	Konzentration in der Sulkusflüssigkeit	IL-1 β und IL-34 unverändert; CSF-1 ↑

Das am häufigsten untersuchte Zytokin ist IL-1 β . Die Messung von IL-1 β ist interessant, da IL-1 β Entzündungsmediator und starker Stimulator für die Knochendemineralisation ist (Masada et al., 1990; Murata et al., 2002). Bei vier Studien zeigte sich IL-1 β unverändert bei Periimplantitis, bei sieben Studien zeigte sich IL-1 β bei Periimplantitis erhöht.

Auch wird durch die Tabelle deutlich, dass beide methodischen Vorgehensweisen – sowohl die Angabe der Zytokinkonzentration in der *Sulkusflüssigkeit* (durch Kenntnis des absorbierten Flüssigkeitsvolumens mittels Periotron-Messgerät), als auch die Angabe der Konzentration in der *Elutionsflüssigkeit*, die der Gesamtmenge an gemessenen Zytokinen entspricht – von Arbeitsgruppen verwendet werden.

5.4 Diskussion der Ergebnisse

Zu den vier im Abschnitt „Ziele der Arbeit“ formulierten Fragen konnten folgende Antworten gefunden werden:

1. Es zeigte sich für die Elution mittels PBS eine optimale Elutionsdauer von 30 Minuten. Zu diesem Zeitpunkt wurde die maximale Zytokinkonzentration im Eluat gemessen. Eine längere Elutionszeit führte nicht zu einer höheren Zytokinkonzentration. Einige Arbeitsgruppen zentrifugieren die Proben während oder nach der Elutionsphase. In der Literatur finden sich verschiedene Vorgehensweisen bei der Elution und es gibt kein empfohlenes, standardisiertes Vorgehen (Übersicht bei Wassal et al., 2016).
2. Beim Vergleich der Zytokinkonzentrationen am Implantat und am Zahn beim jeweils selben Patienten zeigte sich eine Korrelation für IL-1 α und IL-1 β . Dies könnte auf *high* bzw. *low responder* bezüglich einer IL-1 α - und IL-1 β -Antwort hindeuten. Dies wiederum kann genetisch beeinflusst sein (Engebretson et al., 1999; Lachmann et al., 2007).

Für IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α zeigte sich keine signifikante Korrelation. Die Tatsache, dass bei einem Patienten unterschiedliche Zytokinkonzentrationen an einem Implantat und einem Zahn gemessen werden, lässt sich durch die Ortsspezifität (*site specificity*) von parodontalpathogener Besiedelung, aber auch von Entzündungsmediatoren erklären. Ortsspezifität meint, dass innerhalb eines oralen Mikroflorasystems – vergleichbar mit dem klinischen Ausprägung des parodontalen Krankheitsbildes – auch die pathogenen Keime und Entzündungsmediatoren an unterschiedlichen Zähnen und Implantaten und sogar an unterschiedlichen Messstellen eines Zahnes und Implantats unterschiedlich stark vorhanden sein können (Belstrom et al., 2017).

3. Hauptaugenmerk der vorliegenden Studie war der Unterschied der beiden Abutmenttypen und die Frage, ob sich die beiden Patientengruppen in ihrer Zytokinkonzentration unterscheiden. Von allen analysierten Zytokinen zeigte sich nur für die IL-6 Konzentration ein signifikanter Unterschied. Allerdings lagen für IL-6 die Konzentrationen deutlich unter der niedrigsten Konzentrationsstufe der Standard-Verdünnungsreihe (10 pg/ml) und damit unter der Nachweisgrenze des Assays. Damit ist die Bewertung dieses Unterschieds eingeschränkt.
4. Der mittlere Knochenrückgang bei Implantaten mit mikrostrukturierter Abutmentoberfläche war im Mittelwert zwar geringer als bei Implantaten mit maschinierter Oberfläche, aber der Unterschied war statistisch nicht signifikant. Es zeigte sich eine Korrelation der IL-1 α - und IL-1 β -Konzentration mit dem Knochenrückgang bei Implantaten mit maschinierter Oberfläche. IL-1 β ist Entzündungsmediator und starker Stimulator für die Knochendemineralisation (Masada et al., 1990; Murata et al., 2002). Daher bestätigt dieses Ergebnis den Pathomechanismus dieser Zytokinwirkung. Kürzlich wurde für eine andere Klasse von Implantaten – orthopädische Endoprothesen – die zentrale Rolle von Partikel-assoziiierter Inflammasom-Aktivierung und die damit verknüpfte IL-1 β -vermittelte Osteoklasteninduktion für die periimplantäre Osteolyse beschrieben (Hallab et al., 2017; Samelko et al., 2019).

Es gibt Hinweise, dass Polymorphismen der Gene von IL-1 α und IL-1 β mit dem Verlust von Zahnimplantaten assoziiert sind (Metaanalyse bei Liao et al., 2014). Bei diesen Studien wurden diese genetischen Polymorphismen in Assoziation mit Knochenrückgang untersucht (Dereka et al., 2012; Feloutzis et al., 2003; Lin et al., 2007). Bei der Literaturrecherche fanden sich allerdings keine Publikationen über eine Assoziation zwischen erhöhten IL-1 α - und IL-1 β -Konzentrationen und Knochenrückgang, wie in der vorliegenden Studie beobachtet.

Auch wenn es sich nicht in den gemessenen Zytokinkonzentrationen und Messwerten des Knochenrückgangs in der vorliegenden Arbeit widerspiegelt, gibt es in der Literatur Hinweise, dass eine mikrostrukturierte Oberfläche von Implantaten Vorteile haben kann. Studien zeigen, dass es bei mikrostrukturierten Oberflächen am Abutment oder am Implantathals zu einer direkten Bindegewebshaftung an der Oberfläche kommen kann (Nevins et al., 2013). Eine solche direkte Bindegewebshaftung dient als physiologische Barriere für das apikale Herabwachsen des Saumepithels und minimiert den Knochenrückgang im Bereich der Implantatschulter (Iglhaut et al., 2014; Nevins et al., 2010). Da der Bereich des Abutments die entscheidende „Schwachstelle“ für die Hart- und Weichgewebseinheilung eines Implantats darstellt, sind Forschungsansätze für die Verbesserung dieses Bereichs sinnvoll. Hierzu hat auch die Konsenserklärung der European Association for Osseointegration von 2019 bei seinen „*Clinical recommendations*“ und „*Implications for future research*“ auf die Rolle der Plaqueakkumulation hingewiesen (Schwarz et al., 2019).

5.5 Bedeutung für die Klinik und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Zytokinkonzentrationen der Sulkusflüssigkeit für die beiden Abutmenttypen gefunden.

Für die Auswahl von Abutment- und Implantattyp in der Patientenversorgung werden weiter klinische Endpunkte wie zum Beispiel die 5-Jahres-*in-situ*-Rate im Vordergrund stehen. Dabei ist das Kriterium Implantaterfolg nicht eindeutig definiert, denn der Übergang von „gesund“ zu „krank“ ist fließend und es gibt Zwischenstadien (Misch et al., 2008). Zum Beispiel kann sich ein Implantat stabil *in situ* befinden und dennoch eine periimplantäre Entzündung aufweisen. Hauptkriterien für Implantaterfolg sind fehlender Schmerz und fehlende Mobilität (Misch et al., 2008).

Erfolgskriterien für Implantate wurden bereits von mehreren Autoren vorgeschlagen (Papaspnyridakos et al., 2012). Die klassische Definition von Implantaterfolg stammt von Albrektsson et al. (1986) und ist weit verbreitet. Die Erfolgskriterien von Albrektsson umfassen: keine Mobilität des Implantats, keine Schmerzen in der Implantatregion, keine periimplantäre radiologische Transluzenz erkennbar und nach dem ersten Belastungsjahr nicht mehr als 0,2 mm Knochenrückgang pro Jahr (Newman et al., 2015).

Eine neuere Klassifikation stammt von der „Pisa Consensus Conference 2007“. Hierbei werden auch Zwischenstadien zwischen „Erfolg“ und „Misserfolg“ berücksichtigt (siehe Tabelle 6). Die Klassifikation ermöglicht es dem behandelnden Zahnarzt, den Zustand eines Implantats nach der Klassifikation einzuordnen und das Implantat dann dementsprechend zu behandeln (Misch et al., 2008).

Neben den Abutmenteigenschaften werden viele verschiedene Faktoren den Erfolg eines Implantats beeinflussen: dazu zählen a) Grunderkrankungen des Patienten, b) Knochengeometrie und -beschaffenheit, c) Biotyp der Gingiva (Bishti et al., 2014), d) technische Ausführungen des Implantatsystems, z. B. *platform-switching*, e) chirurgische Expertise des behandelnden Zahnarztes und f) häusliche Mundpflege durch den Patienten und Recallsystem durch die Praxis.

Tabelle 6: Klassifikation für Implantaterfolg der Pisa Consensus Conference 2007, zitiert aus Misch et al. (2008)

Qualitätsstaffelung für Implantate		Klinische Kriterien
I.	Erfolg (optimaler Gesundheitszustand)	<ul style="list-style-type: none"> a. Keine Schmerzen oder Empfindlichkeiten bei Funktionsaufnahme b. Keine Mobilität c. weniger als 2 mm radiologisch festgestellter Knochenverlust d. Keine Exsudathistorie
II.	Zufriedenstellende Überlebensrate	<ul style="list-style-type: none"> a. Keine Schmerzen bei Funktionsaufnahme b. Keine Mobilität c. <i>2 bis 4 mm radiologisch festgestellter Knochenverlust</i> d. Keine Exsudathistorie
III.	Beeinträchtigte Überlebensrate	<ul style="list-style-type: none"> a. <i>Eventuell auftretende Sensitivitäten bei Funktionsaufnahme</i> b. Keine Mobilität c. <i>mehr als 4 mm radiologisch festgestellter Knochenverlust (weniger als die Hälfte des Implantatkörperumfangs)</i> d. <i>Sondierungstiefe > 7 mm</i> e. <i>Eventuell vorliegende Exsudathistorie</i>
IV.	Versagensfälle (klinisches oder absolutes Versagen)	<p>Einer der nachfolgenden Gründe:</p> <ul style="list-style-type: none"> a. <i>Auftreten von Schmerzen bei Funktionsaufnahme</i> b. <i>Mobilität vorhanden</i> c. <i>Radiologisch festgestellter Knochenverlust von mehr als der Hälfte der Implantatlänge</i> d. <i>Unkontrolliertes Exsudat</i> e. <i>Implantat nicht mehr im Mundraum vorhanden</i>

Auch laut Schwarz et al. (2019) wird der Zustand des periimplantären Gewebes hauptsächlich durch Plaqueakkumulation beeinflusst. Der Zahnarzt oder die Zahnärztin sollte daher den Patienten bei der Einhaltung der Mundhygiene in besonderem Maße unterstützen.

Gleichzeitig wird die Untersuchung von Entzündungsmediatoren, wie inflammatorischen Zytokinen und Proteasen bei der Periimplantitis weiter eine Bedeutung haben. Zum einen können sie als zeitnah erhebbare prognostische

Biomarker für einen erst in mehreren Jahren erreichten Status des Implantats etabliert werden. Zum anderen sind weitere Erkenntnisse in der Pathophysiologie der Periimplantitis wichtig, auch um neue Strategien für Prophylaxe und Therapie zu entwickeln.

6 Zusammenfassung

Periimplantitis ist eine fortgeschrittene, irreversible Erkrankung des Weichgewebes und des Knochens um Zahnimplantate (Duarte et al., 2016; Smeets et al., 2014). Bei Periimplantitis tragen proinflammatorische Zytokine zur Entzündung des periimplantären Gewebes bei.

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei Gruppen von je 20 Patienten mit unterschiedlichen Abutmentoberflächen an Implantaten (maschinierete Abutmentoberfläche und mikrostrukturierte Abutmentoberfläche) untersucht. Nach Methodikoptimierung wurden an diesen Implantaten und an natürlichen Zähnen Proben von Sulkusflüssigkeit entnommen und die Zytokinkonzentrationen (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α) in den entnommenen Proben quantifiziert. Des Weiteren wurden klinische Indizes erhoben und der Knochenrückgang an den Implantaten radiologisch gemessen.

Ziel war es, zu untersuchen, ob sich die beiden Patientengruppen mit den unterschiedlichen Abutmentoberflächen in der Zytokinkonzentration oder dem Knochenrückgang unterscheiden. Außerdem wurden die Zytokinkonzentrationen an Implantaten mit denen an natürlichen Zähnen verglichen und es wurde untersucht, ob die Zytokinkonzentrationen an Implantaten mit dem radiologisch gemessenen Knochenrückgang korrelieren.

Für IL-1 α , IL-1 β , IL-8, IL-10 und TNF- α zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen. Die IL-6-Konzentration war in der Sulkusflüssigkeit der Implantate mit maschinierter Oberfläche signifikant erhöht, allerdings in einem Konzentrationsbereich nahe oder unter der Nachweisgrenze des Assays. Auch im Knochenrückgang zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Abutmenttypen.

Für IL-1 α und IL-1 β fand sich eine Korrelation zwischen der Konzentration in der Sulkusflüssigkeit bei Zähnen mit der bei Implantaten beim jeweils selben Patienten. Für IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α zeigte sich hierbei keine Korrelation.

Bei den Patienten mit maschinierter Abutmentoberfläche korrelierte die IL-1 α - und IL-1 β -Konzentration mit dem Knochenrückgang. Dieser Befund bestätigt die Hypothese, dass IL-1 α und IL-1 β eine wichtige Mediatorrolle beim Periimplantitis-assoziierten Knochenrückgang spielen. Für die Auswahl von Abutment- und Implantattyp in der Patientenversorgung werden weiter klinische Endpunkte wie zum Beispiel die 5-Jahres-*in-situ*-Rate im Vordergrund stehen.

Die Untersuchung von inflammatorischen Zytokinen bei periimplantären Erkrankungen wird zum Verständnis der Pathophysiologie und für die Entwicklung rechtzeitiger Prävention und therapeutischer Strategien weiter eine Bedeutung haben.

7 Literaturverzeichnis

- Aboyoussef, H., Carter, C., Jandinski, J. J., & Panagakos, F. S. (1998). Detection of prostaglandin E2 and matrix metalloproteinases in implant crevicular fluid. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 13, 689-696.
- Abrahamsson, I., & Soldini, C. (2006). Probe penetration in periodontal and peri-implant tissues. An experimental study in the beagle dog. *Clin Oral Implants Res*, 17, 601-605.
- Albrektsson, T., & Wennerberg, A. (2005). The impact of oral implants - past and future, 1966-2042. *J Can Dent Assoc*, 71, 327.
- Arikan, F., Buduneli, N., & Lappin, D. F. (2011). C-telopeptide pyridinoline crosslinks of type I collagen, soluble RANKL, and osteoprotegerin levels in crevicular fluid of dental implants with peri-implantitis: a case-control study. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 26, 282-289.
- Ata-Ali, J., Flichy-Fernandez, A. J., Alegre-Domingo, T., Ata-Ali, F., Palacio, J., & Penarrocha-Diago, M. (2015). Clinical, microbiological, and immunological aspects of healthy versus peri-implantitis tissue in full arch reconstruction patients: a prospective cross-sectional study. *BMC Oral Health*, 15, 43.
- Babbush, C., Hahn, J., Krauser, J., & Rosenlicht, J. (2011). *Dental Implants: The Art and Science*: Saunders, Elsevier.
- Bach, M. (2007). *Klinisches Wörterbuch Pschyrembel*: Walter de Gruyter, Berlin.
- Barros, S. P., Williams, R., Offenbacher, S., & Morelli, T. (2016). Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol 2000*, 70, 53-64.
- BD-Biosciences. (2007). *Cytometric Bead Array Instruction Manual* Becton, Dickinson and Company.
- Belstrom, D., Sembler-Moller, M. L., Grande, M. A., Kirkby, N., Cotton, S. L., Paster, B. J., & Holmstrup, P. (2017). Microbial profile comparisons of saliva, pooled and site-specific subgingival samples in periodontitis patients. *PLoS One*, 12, 1-11.
- Berglundh, T., Gislason, O., Lekholm, U., Sennerby, L., & Lindhe, J. (2004). Histopathological observations of human periimplantitis lesions. *J Clin Periodontol*, 31, 341-347.
- Bishti, S., Strub, J. R., & Att, W. (2014). Effect of the implant-abutment interface on peri-implant tissues: a systematic review. *Acta Odontol Scand*, 72, 13-25.

- Candel-Marti, M. E., Flichy-Fernandez, A. J., Alegre-Domingo, T., Ata-Ali, J., & Penarrocha-Diago, M. A. (2011). Interleukins IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 and periimplant disease. An update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 16, e518-521.
- Casado, P. L., Canullo, L., de Almeida Filardy, A., Granjeiro, J. M., Barboza, E. P., & Leite Duarte, M. E. (2013). Interleukins 1beta and 10 expressions in the periimplant crevicular fluid from patients with untreated periimplant disease. *Implant Dent*, 22, 143-150.
- Darabi, E., Kadkhoda, Z., & Amirzargar, A. (2013). Comparison of the levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-17 in gingival crevicular fluid of patients with peri-implantitis and a control group with healthy implants. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 12, 75-80.
- Dereka, X., Mardas, N., Chin, S., Petrie, A., & Donos, N. (2012). A systematic review on the association between genetic predisposition and dental implant biological complications. *Clin Oral Implants Res*, 23, 775-788.
- Derks, J., & Tomasi, C. (2015). Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *J Clin Periodontol*, 42 Suppl 16, S158-171.
- Dinareello, C. A. (2018). Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev*, 281, 8-27.
- Duarte, P. M., de Mendonca, A. C., Maximo, M. B., Santos, V. R., Bastos, M. F., & Nociti, F. H. (2009). Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human peri-implant diseases. *J Periodontol*, 80, 234-243.
- Duarte, P. M., Serrao, C. R., Miranda, T. S., Zanatta, L. C., Bastos, M. F., Faveri, M., . . . Feres, M. (2016). Could cytokine levels in the peri-implant crevicular fluid be used to distinguish between healthy implants and implants with peri-implantitis? A systematic review. *J Periodontal Res*, 51, 689-698.
- Elshal, M. F., & McCoy, J. P. (2006). Multiplex bead array assays: performance evaluation and comparison of sensitivity to ELISA. *Methods*, 38, 317-323.
- Engelbreton, S. P., Lamster, I. B., Herrera-Abreu, M., Celenti, R. S., Timms, J. M., Chaudhary, A. G. A., . . . Kornman, K. S. (1999). The influence of interleukin gene polymorphism on expression of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in periodontal tissue and gingival crevicular fluid. *J Periodontol*, 70, 567-573.
- Ericsson, I., & Lindhe, J. (1993). Probing depth at implants and teeth. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*, 20, 623-627.

- Faot, F., Nascimento, G. G., Bielemann, A. M., Campao, T. D., Leite, F. R., & Quirynen, M. (2015). Can peri-implant crevicular fluid assist in the diagnosis of peri-implantitis? A systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*, 86, 631-645.
- Feloutzis, A., Lang, N. P., Tonetti, M. S., Bürgin, W., Brägger, U., Buser, D., . . . Kornman, K. S. (2003). IL-1 gene polymorphism and smoking as risk factors for peri-implant bone loss in a well-maintained population. *Clin Oral Implants Res*, 14, 10-17.
- Guillaume, B. (2016). Dental implants: A review. *Morphologie*, 100, 189-198.
- Gürkan, A., Tekdal, G. P., Bostanci, N., & Belibasakis, G. N. (2019). Cytokine, chemokine, and growth factor levels in peri-implant sulcus during wound healing and osseointegration after piezosurgical versus conventional implant site preparation: Randomized, controlled, split-mouth trial. *J Periodontol*, 90, 616-626.
- Hallab, N. J., & Jacobs, J. J. (2017). Chemokines associated with pathologic responses to orthopedic implant debris. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 8, 5.
- Hellwig, E., Schäfer, E., Klimek, J., & Attin, T. (2018). *Einführung in die Zahnerhaltung*: Deutscher Zahnärzte Verlag.
- Hultin, M., Gustafsson, A., Hallstrom, H., Johansson, L. A., Ekfeldt, A., & Klinge, B. (2002). Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*, 13, 349-358.
- Iglhaut, G., Schwarz, F., Winter, R. R., Mihatovic, I., Stimmelmayer, M., & Schliephake, H. (2014). Epithelial attachment and downgrowth on dental implant abutments--a comprehensive review. *J Esthet Restor Dent*, 26, 324-331.
- Javed, F., Al-Hezaimi, K., Salameh, Z., Almas, K., & Romanos, G. E. (2011). Proinflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Cytokine*, 53, 8-12.
- Kao, R. T., Curtis, D. A., Richards, D. W., & Preble, J. (1995). Increased interleukin-1 beta in the crevicular fluid of diseased implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 10, 696-701.
- Ketabi, M., & Deporter, D. (2013). The effects of laser microgrooves on hard and soft tissue attachment to implant collar surfaces: a literature review and interpretation. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 33, e145-152.
- Lachmann, S., Kimmerle-Müller, E., Axmann, D., Scheideler, L., Weber, H., & Haas, R. (2007). Associations between peri-implant crevicular fluid volume,

- concentrations of crevicular inflammatory mediators, and composite IL-1A -889 and IL-1B +3954 genotype. A cross-sectional study on implant recall patients with and without clinical signs of peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*, 18, 212–223.
- Lehmann, K., Hellwig, E., & Wenz, H. (2009). *Zahnärztliche Propädeutik*: Deutscher Zahnärzte Verlag.
- Leonhardt, A., Berglundh, T., Ericsson, I., & Dahlen, G. (1992). Putative periodontal pathogens on titanium implants and teeth in experimental gingivitis and periodontitis in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res*, 3, 112-119.
- Li, J. Y., & Wang, H. L. (2014). Biomarkers associated with periimplant diseases. *Implant Dent*, 23, 607-611.
- Liao, J., Li, C., Wang, Y., Ten, M., Sun, X., Tian, A., . . . Liang, X. (2014). Meta-analysis of the association between common interleukin-1 polymorphisms and dental implant failure. *Mol Biol Rep*, 41, 2789-2798.
- Lin, Y. H., Huang, P., Lu, X., Guan, D. H., Man, Y., Wei, N., . . . Gong, P. (2007). The relationship between IL-1 gene polymorphism and marginal bone loss around dental implants. *J Oral Maxillofac Surg*, 65, 2340-2344.
- Lindhe, J., Berglundh, T., Ericsson, I., Liljenberg, B., & Marinello, C. (1992). Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. *Clin Oral Implants Res*, 3, 9-16.
- Lira-Junior, R., Teixeira, M. K. S., Lourenco, E. J. V., Telles, D. M., Figueredo, C. M., & Bostrom, E. A. (2019). CSF-1 and IL-34 levels in peri-implant crevicular fluid and saliva from patients having peri-implant diseases. *Clin Oral Investig* [Epub ahead of print].
- Mantovani, A., Dinarello, C. A., Molgora, M., & Garlanda, C. (2019). Interleukin-1 and related cytokines in the regulation of inflammation and immunity. *Immunity*, 50, 778-795.
- Masada, M. P., Persson, R., Kenney, J. S., Lee, S. W., Page, R. C., & Allison, A. C. (1990). Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res*, 25, 156-163.
- Melo, R. F., Lopes, B. M., Shibli, J. A., Marcantonio, E., Jr., Marcantonio, R. A., & Galli, G. M. (2012). Interleukin-1beta and interleukin-6 expression and gene polymorphisms in subjects with peri-implant disease. *Clin Implant Dent Relat Res*, 14, 905-914.

- Misch, C. E., Perel, M. L., Wang, H. L., Sammartino, G., Galindo-Moreno, P., Trisi, P., . . . Valavanis, D. K. (2008). Implant success, survival, and failure: the International Congress of Oral Implantologists (ICOI) Pisa Consensus Conference. *Implant Dent*, 17, 5-15.
- Mombelli, A., Muller, N., & Cionca, N. (2012). The epidemiology of peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*, 23 Suppl 6, 67-76.
- Moncunill, G., Campo, J. J., & Dobano, C. (2014). Quantification of multiple cytokines and chemokines using cytometric bead arrays. *Methods Mol Biol*, 1172, 65-86.
- Morgan, E., Varro, R., Sepulveda, H., Ember, J. A., Apgar, J., Wilson, J., . . . Gaur, A. (2004). Cytometric bead array: a multiplexed assay platform with applications in various areas of biology. *Clin Immunol*, 110, 252-266.
- Murata, M., Tatsumi, J., Kato, Y., Suda, S., Nunokawa, Y., Kobayashi, Y., . . . Yoshie, H. (2002). Osteocalcin, deoxypyridinoline and interleukin-1beta in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*, 13, 637-643.
- Nazar Majeed, Z., Philip, K., Alabsi, A. M., Pushparajan, S., & Swaminathan, D. (2016). Identification of gingival crevicular fluid sampling, analytical methods, and oral biomarkers for the diagnosis and monitoring of periodontal diseases: A systematic review. *Dis Markers*, 2016, 1-23.
- Neukam, F., Wichmann, M., & Wiltfang, J. (2007). *Zahnärztliche Implantologie unter schwierigen Umständen*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
- Nevins, M., Kim, D. M., Jun, S. H., Guze, K., Schupbach, P., & Nevins, M. L. (2010). Histologic evidence of a connective tissue attachment to laser microgrooved abutments: a canine study. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 30, 245-255.
- Nevins, M., Nevins, M., Gobbato, L., Lee, H. J., Wang, C. W., & Kim, D. M. (2013). Maintaining interimplant crestal bone height via a combined platform-switched, Laser-Lok implant/abutment system: a proof-of-principle canine study. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 33, 261-267.
- Newman, M., Takei, H., Klokkevold, P., & Carranza. (2015). *Carranza's Clinical Periodontology*. Elsevier.
- Papaspyridakos, P., Chen, C. J., Singh, M., Weber, H. P., & Gallucci, G. O. (2012). Success criteria in implant dentistry: a systematic review. *J Dent Res*, 91, 242-248.
- Pontoriero, R., Tonelli, M. P., Carnevale, G., Mombelli, A., Nyman, S. R., & Lang, N. P. (1994). Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clin Oral Implants Res*, 5, 254-259.

- Rakic, M., Lekovic, V., Nikolic-Jakoba, N., Vojvodic, D., Petkovic-Curcin, A., & Sanz, M. (2013). Bone loss biomarkers associated with peri-implantitis. A cross-sectional study. *Clin Oral Implants Res*, 24, 1110-1116.
- Rakic, M., Struillou, X., Petkovic-Curcin, A., Matic, S., Canullo, L., Sanz, M., & Vojvodic, D. (2014). Estimation of bone loss biomarkers as a diagnostic tool for peri-implantitis. *J Periodontol*, 85, 1566-1574.
- Ramseier, C. A., Eick, S., Bronnimann, C., Buser, D., Bragger, U., & Salvi, G. E. (2016). Host-derived biomarkers at teeth and implants in partially edentulous patients. A 10-year retrospective study. *Clin Oral Implants Res*, 27, 211-217.
- Renvert, S., & Giovannoli, J. (2012). *Periimplantitis*: Quintessence International, Paris.
- Renvert, S., Widen, C., & Persson, R. G. (2017). Cytokine and microbial profiles in relation to the clinical outcome following treatment of peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*, 28, 1127-1132.
- Rosentritt, M., Ilie, N., & Lohbauer, U. (2018). *Werkstoffkunde in der Zahnmedizin* Georg Thieme Verlag.
- Salonen, J. I., & Paunio, K. U. (1991). An intracrevicular washing method for collection of crevicular contents. *Scand J Dent Res*, 99, 406-412.
- Samelko, L., Caicedo, M. S., Jacobs, J., & Hallab, N. J. (2019). Transition from metal-DTH resistance to susceptibility is facilitated by NLRP3 inflammasome signaling induced Th17 reactivity: Implications for orthopedic implants. *PLoS One*, 14, e0210336.
- Sanz-Martin, I., Sanz-Sanchez, I., Carrillo de Albornoz, A., Figuero, E., & Sanz, M. (2018). Effects of modified abutment characteristics on peri-implant soft tissue health: A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res*, 29, 118-129.
- Sarlati, F., Sattari, M., Razzaghi, S., & Nasiri, M. (2012). Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand and osteoprotegerin levels in gingival crevicular fluid. *Dent Res J (Isfahan)*, 9, 752-757.
- Schwarz, F., Derks, J., Monje, A., & Wang, H. L. (2018). Peri-implantitis. *J Clin Periodontol*, 45 Suppl 20, 246-266.
- Schwarz, F., Messias, A., Sanz-Sanchez, I., Carrillo de Albornoz, A., Nicolau, P., Taylor, T., . . . Sanz, M. (2019). Influence of implant neck and abutment characteristics on peri-implant tissue health and stability. Oral reconstruction foundation consensus report. *Clin Oral Implants Res*, 30, 588-593.

- Schwarz, F., Mihatovic, I., Golubovic, V., Eick, S., Iglhaut, T., & Becker, J. (2014). Experimental peri-implant mucositis at different implant surfaces. *J Clin Periodontol*, 41, 513-520.
- Severino, V. O., Napimoga, M. H., & de Lima Pereira, S. A. (2011). Expression of IL-6, IL-10, IL-17 and IL-8 in the peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Arch Oral Biol*, 56, 823-828.
- Smeets, R., Henningsen, A., Jung, O., Heiland, M., Hammacher, C., & Stein, J. M. (2014). Definition, etiology, prevention and treatment of peri-implantitis - a review. *Head Face Med*, 10, 34.
- Varro, R., Chen, R., Sepulveda, H., & Apgar, J. (2007). Bead-based multianalyte flow immunoassays: the cytometric bead array system. *Methods Mol Biol*, 378, 125-152.
- Wang, H. L., Garaicoa-Pazmino, C., Collins, A., Ong, H. S., Chudri, R., & Giannobile, W. V. (2016). Protein biomarkers and microbial profiles in peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*, 27, 1129-1136.
- Wassall, R. R., & Preshaw, P. M. (2016). Clinical and technical considerations in the analysis of gingival crevicular fluid. *Periodontol 2000*, 70, 65-79.
- Weber, T. (2010). *Memorix Zahnmedizin*: Georg Thieme Verlag KG.
- Wennerberg, A., & Albrektsson, T. (2009). Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. *Clin Oral Implants Res*, 20 Suppl 4, 172-184.
- Yaghobee, S., Khorsand, A., Rasouli Ghohroudi, A. A., Sanjari, K., & Kadkhodazadeh, M. (2014). Assessment of interleukin-1beta and interleukin-6 in the crevicular fluid around healthy implants, implants with peri-implantitis, and healthy teeth: a cross-sectional study. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*, 40, 220-224.
- Zhang, Y., Wang, C., Jinbu, Y., Itoh, H., & Kusama, M. (2005). Increased IL-6 levels in peri-implant crevicular fluid correlate with peri-implantitis. *Oral Med Pathol*, 10, 95-99.

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau eines Zahnimplantats (eigene Darstellung).....	8
Abbildung 2: Strukturen des periimplantären Gewebes (rechte Bildhälfte) im Vergleich zum parodontalen Gewebe (linke Bildhälfte). a) orales Epithel, b) orales Sulkusepithel, c) Saumepithel, d) Kollagenfasern, e) Bindegewebe mit Kollagenfasern und Gefäßen, f) Alveolarknochen; entnommen aus Renvert et al. (2012), mit Genehmigung des Verlags per E-Mail vom 31. Juli 2019	10
Abbildung 3: Ausbreitung eines entzündlichen Infiltrats im periimplantären Gewebe (rechte Bildhälfte) im Vergleich zur Ausbreitung im parodontalen Gewebe (linke Bildhälfte); entnommen aus Renvert et al. (2012), mit Genehmigung des Verlags per E-Mail vom 31. Juli 2019.....	12
Abbildung 4: Prinzip des Cytometric Bead Array: Antikörper-beladene Beads mit dem zu bestimmenden Zytokin und fluoreszierenden Antikörpern (eigene Darstellung)	22
Abbildung 5: Konzentrationen [pg/ml] von IL-1 α , IL-1 β , IL-6 und IL-8 in der entnommenen Sulkusflüssigkeit an je einem Zahn und je einem Implantat von Patienten (n = 3) nach einer Elutionsdauer von 5, 15, 30, 60, 90 und 120 min.....	28
Abbildung 6: Konzentrationen [pg/ml] von IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α ; Vergleich der Werte an je einem Zahn und je einem Implantat desselben Patienten (n = 40).....	29
Abbildung 7: Konzentrationen [pg/ml] von IL-1 α , IL-1 β , IL-6 und IL-8 in der entnommenen Sulkusflüssigkeit an je einem Zahn und je einem Implantat von Patienten (n = 20) in Praxis A (hier Implantate mit Laser-mikrostrukturierter Abutmentoberfläche) und von je einem Zahn und je einem Implantat von Patienten (n = 20) in Praxis B (hier Implantate mit maschinierter Abutmentoberfläche).....	31
Abbildung 8: Korrelation zwischen radiologisch gemessenen Knochenrückgang und der gemessenen IL-1 α - und IL-1 β -Konzentration in der Sulkusflüssigkeit an Implantaten mit maschinierter Oberfläche (n = 20)	34

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Patientencharakteristika der an der Studie teilnehmenden Patienten (n = 40).....	27
Tabelle 2: Kontrollversuch: Konzentrationen [pg/ml] von IL-1 α , IL-1 β , IL-6 und IL-8 in der entnommenen Sulkusflüssigkeit von Probanden (n = 4) von Untersucher A aus Praxis A und Untersucher B aus Praxis B.....	33
Tabelle 3: Korrelation von radiologisch gemessenen Knochenrückgang [mm] mit der Konzentration [pg/ml] von IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α in der entnommenen Sulkusflüssigkeit an Implantaten mit mikrostrukturierter Abutmentoberfläche (Praxis A).....	35
Tabelle 4: Korrelation von radiologisch gemessenen Knochenrückgang [mm] mit der Konzentration [pg/ml] von IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α in der entnommenen Sulkusflüssigkeit an Implantaten mit maschinierter Abutmentoberfläche (Praxis B).....	35
Tabelle 5: Übersicht über Studien zur Quantifizierung von Zytokinen bei Implantaten, basierend auf Duarte et al. (2016)	41
Tabelle 6: Klassifikation für Implantaterfolg der Pisa Consensus Conference 2007, zitiert aus Misch et al. (2008).....	46

11 Danksagung

Herrn Professor Peter Thomas, Leiter der Arbeitsgruppe AllergoMat der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Ludwig-Maximilians-Universität München, danke ich für die Überlassung dieses interessanten Themas, die hervorragende Betreuung und für die konstruktive Kritik während der gesamten Arbeit. Vielen Dank für die stets herzliche und motivierende Unterstützung.

Großer Dank gebührt ferner den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe für ihre außerordentliche Hilfsbereitschaft. Besonders danke ich Herrn Dr. Burkhard Summer für die große Unterstützung bei der Laborarbeit und bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Ich danke Herrn PD Dr. Gerhard Iglhaut und Dr. Sebastian Salomon dafür, die Studie durch die Untersuchung der Patienten in ihren Praxen ermöglicht zu haben, sowie für die fachliche Unterstützung und ansteckende Begeisterung für die Implantatforschung.

Große Dankbarkeit empfinde ich für meine Freunde und Familie. Mein größter Dank gilt meinen Eltern für ihre liebevolle und bedingungslose Unterstützung während meines Studiums, der Doktorarbeit und darüber hinaus. Ich danke meinem Vater, der mich durch seine Erfahrung und Geduld auf ganz besondere Weise bei dieser Arbeit begleitet hat.

12 Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Messung der Zytokinkonzentration in der Sulkusflüssigkeit an Zähnen und Titan-Zahnimplantaten: Korrelation mit periimplantärem Knochenrückgang

selbstständig verfasst, mich außer den angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 14. Oktober 2020

Janina Endres